การจัดคาริโอไทป์ของโครโมโซมอัตโนมัติด้วยวิธีประมวลผลภาพ

AUTOMATED CHROMOSOME KARYOTYPING USING IMAGE PROCESSING

เกษมสันต์ คูภานุมาต
KSAEMSANT KUPHANUMAT

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาการคอมพิวเตอร์และเทคโนโลยีสารสนเทศ
บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2543
ISBN 974-622-721-1

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าฉลาดกระบัง

การจัดคาริโอไทป์ของโครโมโซมอัตโนมัติด้วยวิธีประมวลผลภาพ

AUTOMATED CHROMOSOME KARYOTYPING USING IMAGE PROCESSING

เกษมสันต์ คูภานุมาต
KSAEMSANT KUPHANUMAT

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาการคอมพิวเตอร์และเทคโนโลยีสารสนเทศ
บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ.2543

ISBN 974-622-721-1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 35711
วัน, เดือน, ปี 19 มิ.ย. 2543

AUTOMATED CHROMOSOME KARYOTYPING USING IMAGE PROCESSING

KSAEMSANT KUPHANUMAT

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN COMPUTER SCIENCE
AND INFORMATION TECHNOLOGY
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2000

ISBN 974-622-721-1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2000
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การจัดคาริโอไทป์ของโครโมโซมอัตโนมัติด้วยวิธีประมวลผลภาพ
AUTOMATED CHROMOSOME KARYOTYPING USING IMAGE PROCESSING

ชื่อนักศึกษา นายเกษมสันต์ คูภานุมาต

รหัสประจำตัว 36064002

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา วิทยาการคอมพิวเตอร์และเทคโนโลยีสารสนเทศ

อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร.บุญธีร์ เครือตราชู

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์		ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.บุญธีร์	เครือตราชู	
ดร.นพพร	โชติกกำธร	
ดร.วรพจน์	กรีสุระเดช	
รศ.ดร.ยุทธพงษ์	รังสรรค์เสรี	
รศ.ดร.บุญวัฒน์	อัตชู	

วัน/เดือน/ปี ที่สอบ 18 กุมภาพันธ์ 2543 เวลา 10.00 น. เป็นต้นไป

สถานที่สอบ ห้องบรรยาย 231-232 ชั้น 2 อาคารสำนักวิจัยและบริการคอมพิวเตอร์

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว

(รศ.ดร.มนัส สังวรศิลป์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 8 **เดือน** กุมภาพันธ์ **พ.ศ.** 2543

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การจัดคาริโอไทป์ของโครโมโซมอัตโนมัติ ด้วยวิธีประมวลผลภาพ
นักศึกษา	นายเกษมสันต์ คูภานุมาต
รหัสประจำตัว	36064002
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	วิทยาการคอมพิวเตอร์และเทคโนโลยีสารสนเทศ
พ.ศ.	2543
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร.บุญธีร์ เครือตราชู

บทคัดย่อ

การจำแนกและวิเคราะห์ภาพโครโมโซม ที่ได้จากกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง เป็นงานที่มีความสำคัญทางด้านเวชพันธุศาสตร์ เพื่อทำการตรวจสอบและวินิจฉัยโรค ซึ่งเกิดจากความผิดปกติทางพันธุกรรม ในงานวิจัยนี้ได้พัฒนาซอฟแวร์ต้นแบบเพื่อใช้ในการจัดคาริโอไทป์ของโครโมโซมมนุษย์โดยอัตโนมัติ โดยได้รวบรวม Algorithms ต่างๆเพื่อนำมาใช้ในแต่ละขั้นตอนของซอฟแวร์ ซึ่งแบ่งได้เป็น 4 ขั้นตอนคือ 1. Segmentation and noise reduction, 2. Skeletonization, 3. Feature extraction, 4. Classification และได้นำเสนอวิธีการหาแนวแกนกลางของภาพชิ้นโครโมโซมอย่างรวดเร็ว ด้วยเทคนิคการทำ Cubic Splines Interpolation แนวแกนที่ได้สามารถใช้เป็นแกนหลักในการวัดความยาว ระยะของจุดเซนโตรเมียร์ และหารูปแบบการกระจายของแถบความเข้มบนชิ้นโครโมโซมได้ ข้อมูลเฉพาะของโครโมโซมเหล่านี้ จะนำไปใช้จำแนกชนิดของโครโมโซมด้วยวิธี Mean Square Error ต่อไป ผลที่ได้จากการทดลอง มีเปอร์เซ็นต์ความถูกต้องโดยเฉลี่ยเท่ากับ 70.15%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Automated Chromosome Karyotyping Using Image Processing
Student	Mr. Ksaemsant Kuphanumat
Student ID.	36064002
Degree	Master of Science
Programme	Computer Science and Information Technology
Year	2000
Thesis Advisor	Assis.Prof.Dr.Boontee Kruatrachue

ABSTRACT

The classification and analysis of microscropic chromosome images is an important task in medical genetic to inspect and diagnose abnormal genetic diseases. This research has developed the software prototype with variety algorithms collection in each step for the human chromosome karyotyping, 1. Segmentation and noise reduction, 2. Skeletonization, 3. Feature extraction, 4. Classification. The Cubic Splines Interpolation has been technique to find the medial axis of the chromosome image. The length of chromosome, centromere positions and band distribution profiles are measured along the medial axis. Each specific data is used to classify the chromosome with Mean Square Error technique. The average percentage of classification is 70.15%.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณท่าน รศ.ดร.ศักรินทร์ ภูมิรัตน์ ผู้อำนวยการศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ที่ให้การสนับสนุนและกำลังใจอย่างมากกับผู้วิจัย ตลอดจนผู้บริหาร พนักงาน และนักวิจัยทุกท่านที่ช่วยเหลือและให้กำลังใจกับผู้วิจัยอย่างดีตลอดมา

ขอขอบคุณ ผศ.ดร.บุษบา ฤกษ์อำนวยโชค และ ดร.วสันต์ จันทราทิตย์ หน่วยมนุษย์พันธุศาสตร์ ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ รพ.รามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล ซึ่งได้ให้คำแนะนำและอำนวยความสะดวกในการเยี่ยมชมห้องปฏิบัติการ และได้มอบภาพถ่ายของโครโมโซมจากกล้องจุลทัศน์เพื่อใช้ในงานวิจัยนี้อีกด้วย

ขอขอบคุณ พันตำรวจตรี บุญชัย ฤาชัยสา คุณอัญชลี วานิชทวีวัฒน์ คุณอภิชาติ อนุมัติ และเพื่อนๆ ร่วมรุ่นทุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือและให้กำลังใจมาโดยตลอด

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้จะสำเร็จลุล่วงไปมิได้ หากไม่ได้รับความกรุณาจากท่าน ผศ.ดร.บุญธีร์ เครือตราชู ซึ่งท่านได้ทุ่มเททั้งกาย ใจ ในการควบคุมวิทยานิพนธ์ ให้คำปรึกษาและแนะนำในการแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ เป็นอย่างดียิ่ง ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความอนุเคราะห์จากท่านเป็นอย่างมาก และขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

คุณค่าและคุณประโยชน์อันพึงได้รับจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบแด่ บิดา มารดา ครู อาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่าน

เกษมสันต์ คูภานุมาต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....II

กิตติกรรมประกาศ.....III

สารบัญ.....IV

สารบัญตาราง.....VI

สารบัญภาพ.....VII

บทที่ 1 บทนำ.....1

1.1 โครโมโซมคืออะไร.....1

1.2 ขั้นตอนการเตรียมเซลเพื่อใช้ในการจัดโอไทป์.....8

1.3 ขั้นตอนการจัดคาริโอไทป์ด้วยวิธีการทางคอมพิวเตอร์.....9

1.4 วัตถุประสงค์และขอบเขตของงานวิจัย.....10

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....11

1.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....11

1.7 โครงสร้างของวิทยานิพนธ์.....13

บทที่ 2 การแยกภาพโครโมโซมออกจากพื้นหลัง.....13

2.1 การหาค่าเทรสโฮลด้วยวิธี Intensity Gradient Threshold Base Method.....14

2.2 การทำเซ็กเมนเตชั่นโดยใช้ Double Threshold.....18

2.3 การหาขอบและแยกส่วนของโครโมโซมออกจากพื้นหลัง.....20

บทที่ 3 การหาแกนของภาพโครโมโซม.....23

3.1 การหาแกนด้วยวิธีทำให้บาง.....24

3.2 การปรับขอบภาพด้วยวิธี Dilation.....27

3.3 การหาแกนด้วยวิธี Median Axis Tranform.....30

3.3.1 การสร้าง Euclidean Distance Map.....31

3.3.2 การหาแกนของภาพจาก EDM.....35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.4 การหาแกนด้วยวิธี Cubic Splines Interpolation 35

3.4.1 การหมุนภาพโครโมโซมให้อยู่ในแนวราบ.....35

3.4.2 การกำหนดจุดกึ่งกลางของความกว้างบนชิ้นโครโมโซม.....38

3.4.3 การสร้างสมการโพลีโนเมียล 38

3.5 การปรับภาพโครโมโซมที่โค้งงอให้อยู่ในแนวตรง 41

บทที่ 4 การหาลักษณะเฉพาะและจำแนกชนิดของโครโมโซม.....43

4.1 การกำหนดสัดส่วนความยาวของโครโมโซม 44

4.2 การหาระยะของจุดเซ็นโตรเมีย.....45

4.3 การหารูปแบบการกระจายของแถบความเข้มบนชิ้นโครโมโซม.....47

4.4 การคำนวณค่าความแตกต่างของโครโมโซมตัวอย่างกับโครโมโซมมาตรฐาน 48

บทที่ 5 การทดลองและผลการทดลอง 52

5.1 ผลการแยกภาพโครโมโซมออกจากพื้นหลัง.....52

5.2 ผลการปรับปรุงขอบภาพชิ้นโครโมโซม.....59

5.3 ผลการหาแกนของภาพด้วยวิธีทำวัตถุให้บาง.....60

5.4 ผลการหาแกนของภาพด้วยวิธี Median Axis Tranform.....62

5.5 ผลการหาแกนของภาพด้วยวิธี Cubic Spline Interpolation 63

5.6 ผลการปรับโครงรูปของโครโมโซมให้อยู่ในแนวตรง.....64

5.7 ผลการหาลักษณะเฉพาะของชุดโครโมโซมมาตรฐาน.....65

5.8 ผลการจำแนกชนิดของโครโมโซม.....72

บทที่ 6 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 77

เอกสารอ้างอิง 79

ภาคผนวก ผลงานทางวิชาการที่ได้รับการตีพิมพ์ 81

ประวัติผู้เขียน 86

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

5.1 ผลการหาลักษณะเฉพาะของชุดโครโมโซมมาตรฐาน 66

5.2 ผลการจำแนกชนิดของชุดโครโมโซมตัวอย่าง 72

5.3 จำนวนโครโมโซมที่จำแนกผิดพลาดแยกตามชนิดของโครโมโซม.....75

6.1 เปรียบเทียบผลที่ได้จากการการหาแกนด้วยวิธีต่างๆ.....78

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

1.1 โครงสร้างของเซล....1
1.2 โครงสร้างของโครโมโซม....2
1.3 โครโมโซมในระยะเมตาเฟส....3
1.4 การแบ่งเซลในระยะต่าง ๆ....4
1.5 หน้าที่การทำงานของยีนตำแหน่งต่าง ๆ บนโครโมโซม X ของมนุษย์....5
1.6 แผนผังลักษณะของโครโมโซมคนทั้ง 23 คู่....6
1.7 คาริโอไทป์ของโครโมโซมคนปกติ(เพศชาย)....6
1.8 คาริโอไทป์ของโครโมโซมผู้ที่ป่วยเป็นโรค Down's Syndrom(เพศชาย)....7
1.9 คาริโอไทป์ของโครโมโซมมนุษย์ผู้ชายที่ป่วยเป็นโรค Klinefelter's Syndrom....7
1.10 ขั้นตอนการจัดคาริโอไทป์....9
1.11 ขั้นตอนการจัดคาริโอไทป์ด้วยวิธีการทางคอมพิวเตอร์....10
2.1 A bimodal histogram....15
2.2 ฮิสโตรแกรมของภาพโครโมโซม....15
2.3 Intensity Gradient ของภาพโครโมโซม....16
2.4 ค่าความสว่างของจุดภาพ p และจุดประชิด....17
2.5 การหาค่าเทรสโฮลจากเกรเดียของภาพ....19
2.6 การพิจารณาความสว่างของจุดภาพกับเทรสโฮล 2 ค่า....20
2.7 ผลการทำ Segmentation โดยใช้ Double Threshold....20
2.8 การทำงานของ Seed-fill algorithm....21
2.9 ผลของการหาขอบภาพโครโมโซมด้วย Seed-fill algorithm....22
3.1 แกนของภาพโครโมโซม....23
3.2 จุดภาพและจุดประชิด....24
3.3 รูปแบบของจุดภาพและจุดประชิดที่เป็นแกนหลักของโครโมโซม....24
3.4 แกนโครโมโซมที่เป็นเส้นกิ่งและขาดเป็นช่วงๆ จากการทำ Thinning....27
3.5 ตัวอย่างจุดภาพที่ทำ Dilation เมื่อสัมประสิทธิ์ เท่ากับ 4....28
3.6 การทำ Dilation จำนวน 5 รอบโดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์แตกต่างกัน....39
3.7 ผลของการทำ Thinning ภาพโครโมโซม....30
3.8 การวัดระยะทางระหว่างจุดภาพที่เป็นจุดประชิดกัน....32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

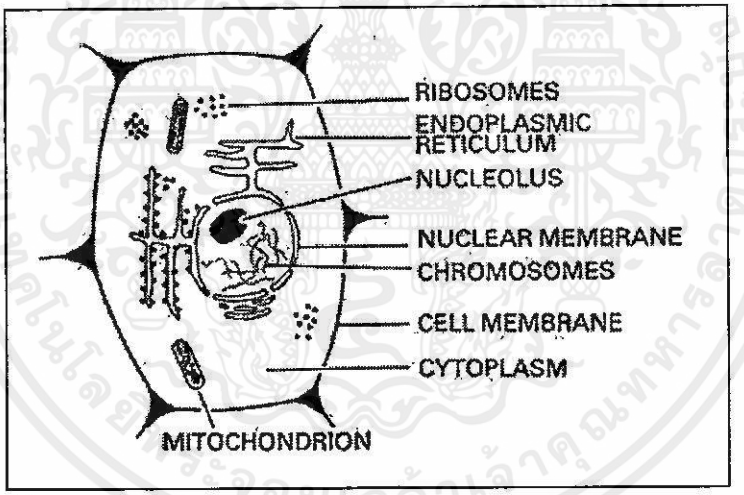
3.9 ตัวอย่างภาพที่คำนวณ Euclidean Distance Map (EDM) 33
3.10 แกนภาพจาก Median Axis Transform 34
3.11 Billinear interpolation 37
3.12 การหาจุดกึ่งกลางของความกว้างบนชิ้นโครโมโซม 38
3.13 Cublic Splines 39
3.14 การปรับภาพโครโมโซมที่โค้งงอให้อยู่ในแนวตรง 41
4.1 ลักษณะเฉพาะของโครโมโซม 43
4.2 การกำหนดสัดส่วนความยาวของชิ้นโครโมโซม 44
4.3 สัดส่วนระยะจากจุดเซนโตรเมีย 45
4.4 การหาจุดเซนโตรเมีย 46
4.5 Density Profiles ของโครโมโซม 47
4.6 การเปรียบเทียบการกระจายของแถบความเข้มบนชิ้นโครโมโซม 50
5.1 ภาพเกรสเกลของโครโมโซม 53
5.2 Intensity Gradient ของภาพโครโมโซม 54
5.3 ภาพไบนารี่ของโครโมโซมเมื่อใช้ Single Threshold 55
5.4 ภาพไบนารี่ของโครโมโซมเมื่อใช้ Double Threshold 56
5.5 ผลของการหาขอบภาพโครโมโซมโดยใช้ Sedd-fill Algorithm 57
5.6 ผลการแยกโครโมโซมออกจากพื้นหลัง 58
5.7 ผลการทำ Dilation โดยใช้จำนวนรอบต่าง ๆ กัน 59
5.8 การทำ Dilation จำนวน 5 รอบ โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์แตกต่างกัน 60
5.9 ตัวอย่างของแกนภาพชิ้นโครโมโซมที่ได้จาก Thinning Algorithm 61
5.10 ตัวอย่างของแกนภาพชิ้นโครโมโซมที่ได้จาก Median Axis Trasform 62
5.11 ตัวอย่างของแกนภาพชิ้นโครโมโซมที่ได้จาก Cublic Spline Interpolation 63
5.12 ตัวอย่างของแกนภาพโครโมโซมเมื่อปรับให้อยู่ในแนวตรง 64
5.13 ชุดโครโมโซมมาตรฐาน 65
5.14 ผลการหาลักษณะเฉพาะของชุดโครโมโซมมาตรฐาน 67
5.15 ตัวอย่างภาพผลการจำแนกชนิดโครโมโซมเปรียบเทียบกับภาพคาริโอไทป์ที่ถูกต้อง 74
5.16 จำนวนโครโมโซมที่ไม่สามารถจำแนกได้แยกตามชนิด 76

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 โครโมโซมคืออะไร

โครโมโซมคือกลุ่มของสารพันธุกรรม ซึ่งเกิดจากการขดและม้วนตัวของสายดีเอ็นเอกับโปรตีนซึ่งอยู่ภายในนิวเคลียสของเซล ซึ่งจะพบได้ในสิ่งมีชีวิตทุกชนิด (รูปที่ 1.1) จากการศึกษาลักษณะโครงรูปของโครโมโซมพบว่า เซลที่มีการแบ่งตัวอยู่ในระยะเมตาเฟส จะมีการขดและบีบตัวของสายโครโมโซมแต่ละเส้นจนมีลักษณะเป็นโครงรูปแท่ง มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1400 นาโนเมตร สามารถสังเกตุเห็นได้ชัดเจนด้วยกล้องจุลทัศน์กำลังขยายสูง โดยจะมีจำนวน ขนาด และรูปร่างแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับสิ่งมีชีวิตในแต่ละสปีชีส์

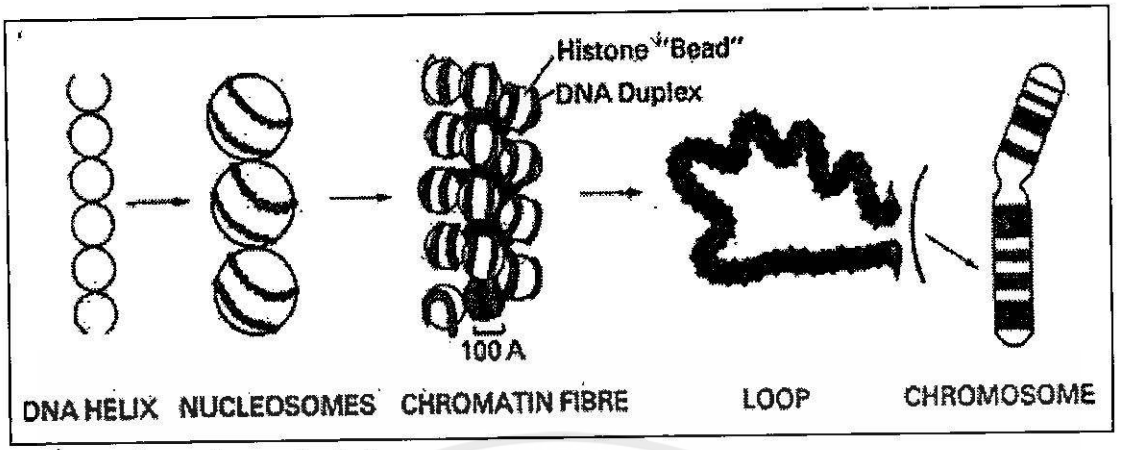


รูปที่ 1.1 โครงสร้างของเซล

โครงสร้างของโครโมโซม ประกอบด้วยสายของดีเอ็นเอ ซึ่งพันเกลียวกัน 4 ขั้นตอน (รูปที่ 1.2) ดังนี้

1. Primary Coiling : ดีเอ็นเอจะพันกันเป็นเกลียวคู่ (Double helix)
2. Sencondary Coiling : ดีเอ็นเอเกลียวคู่จะพันรอบ ๆ ฮิสโตนซึ่งเป็นโปรตีนชนิดหนึ่ง ได้โครงสร้างที่เรียกว่า นิวคลีโอโซม
3. Tertiary Coiling : นิวคลีโอโซมพันเกลียวกันเป็นเส้นใยโครมาติน
4. Quarternary Coiling : เส้นใยโครมาตินจะพันเกลียวกันเป็นลูปจากนั้นลูปจะม้วนขดกันแน่นเป็นโครโมโซม

เอกสารนี้เป็นกรรมสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ห้ามนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น

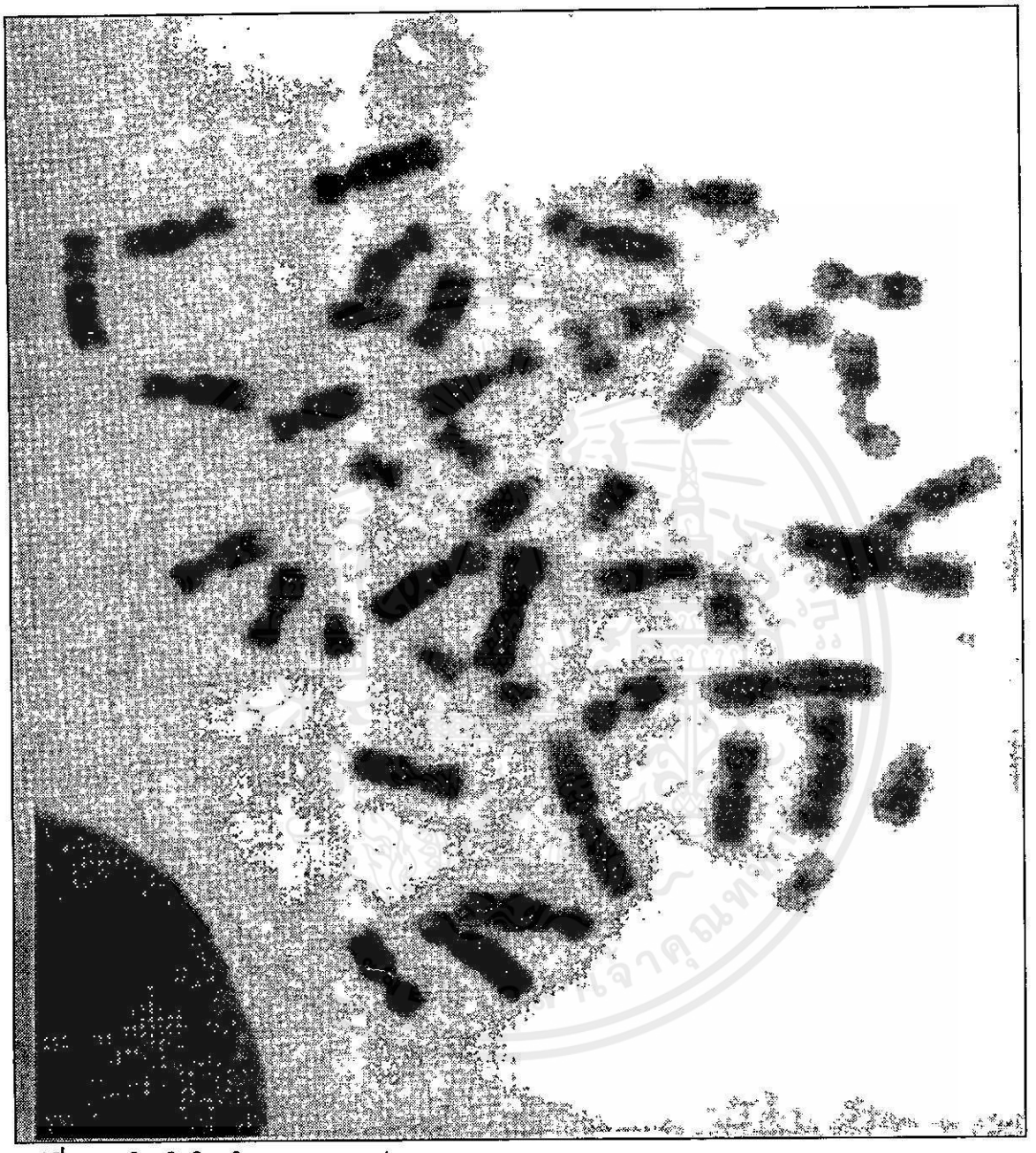


รูปที่ 1.2 โครงสร้างของโครโมโซม

โครโมโซมในเซลจะมีขนาดและจำนวนแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับลักษณะสิ่งมีมีชีวิตแต่ละชนิด การศึกษาลักษณะโครงสร้างภายนอกโครโมโซมทำได้ด้วยการย้อมสี จากนั้นจึงนำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ซึ่งระยะที่สามารถเห็นโครโมโซมได้อย่างชัดเจนคือช่วงของการแบ่งเซลในระยะเมตาเฟส (รูปที่ 1.3)

โดยทั่วไปจะแบ่งโครโมโซมออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ กลุ่มแรกคือโครโมโซมธรรมดาเรียกว่า ออโตโซม ส่วนกลุ่มที่สองคือโครโมโซมเพศ ซึ่งจะมี 2 ชนิดคือ X และ Y โดยปกติในเซลสิ่งมีชีวิตจะมีโครโมโซมซึ่งมีลักษณะเหมือนกันอยู่เป็นคู่ๆ เรียกว่า โฮโมโลกัสแพร ในมนุษย์จะพบโครโมโซมทั้งหมด 23 คู่ หรือ 46 โครโมโซม โดยแบ่งออกเป็น ออโตโซม 22 คู่ และโครโมโซมเพศ 1 คู่ ในเพศชายโครโมโซมเพศจะเป็น X,Y ส่วนในเพศหญิงจะเป็น X,X [1]

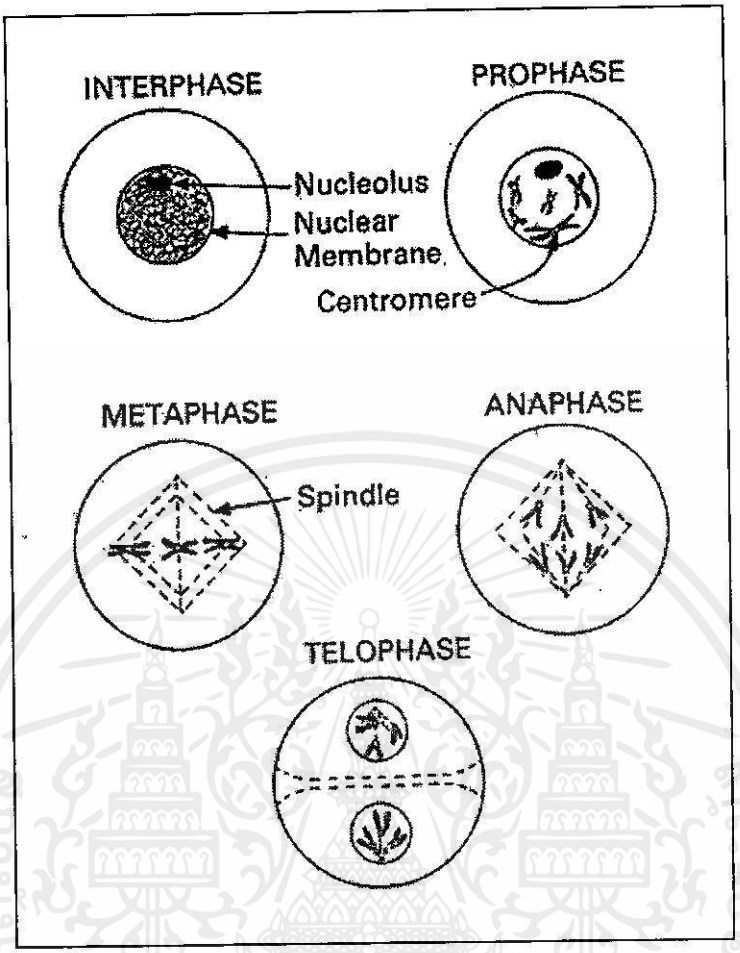
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1.3 โครโมโซมในระยะเมตาเฟส

ภาพจากหน่วยมนุษย์พันธุศาสตร์ ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี

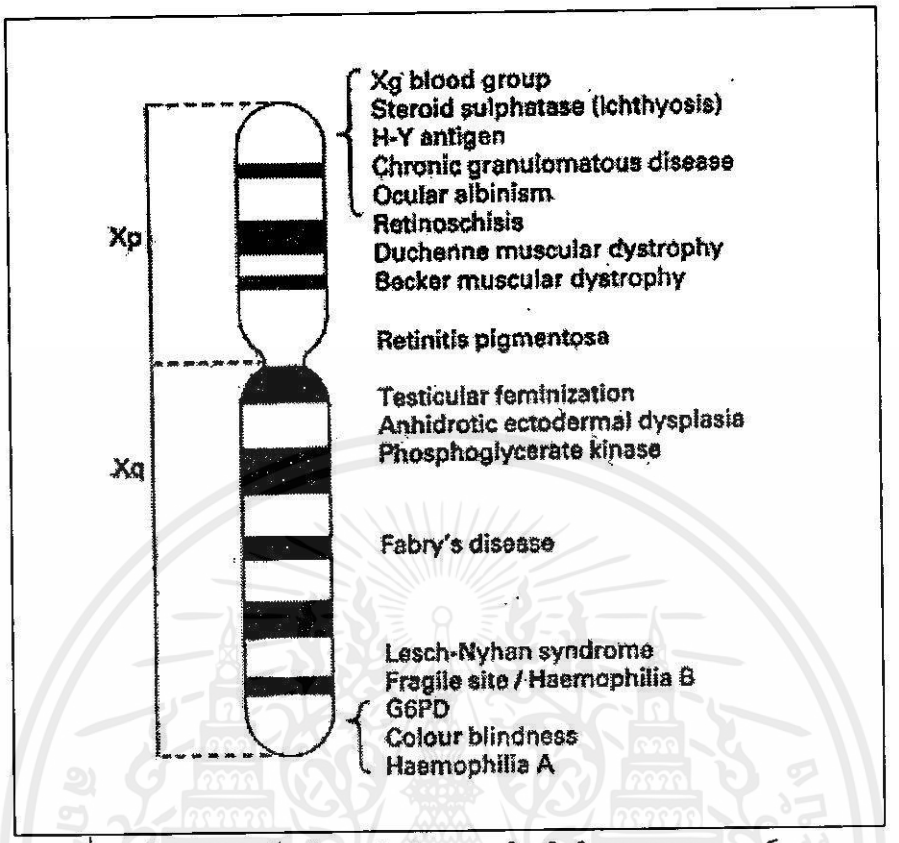
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1.4 การแบ่งเซลในระยะต่างๆ

โครโมโซมแต่ละชนิดจะมีกลุ่มโครงสร้างของยีน ที่แตกต่างกันออกไป ซึ่งแต่ละยีนจะทำหน้าที่ควบคุมการทำงานและลักษณะการแสดงออกทางกายภาพต่างๆของสิ่งมีชีวิต ซึ่งลักษณะเหล่านี้ยังสามารถถ่ายทอดจากพ่อแม่ไปยังลูกหลานได้อีกด้วย ในปัจจุบันได้มีการศึกษาโครงสร้างของยีนอย่างละเอียดด้วยการวิเคราะห์และถอดรหัสพันธุกรรมจากสายดีเอ็นเอซึ่งความรู้เหล่านี้จะนำไปสู่ความเข้าใจถึงหน้าที่การทำงานของยีนบนตำแหน่งต่างๆของโครโมโซมได้ดียิ่งขึ้น (รูปที่ 1.5)

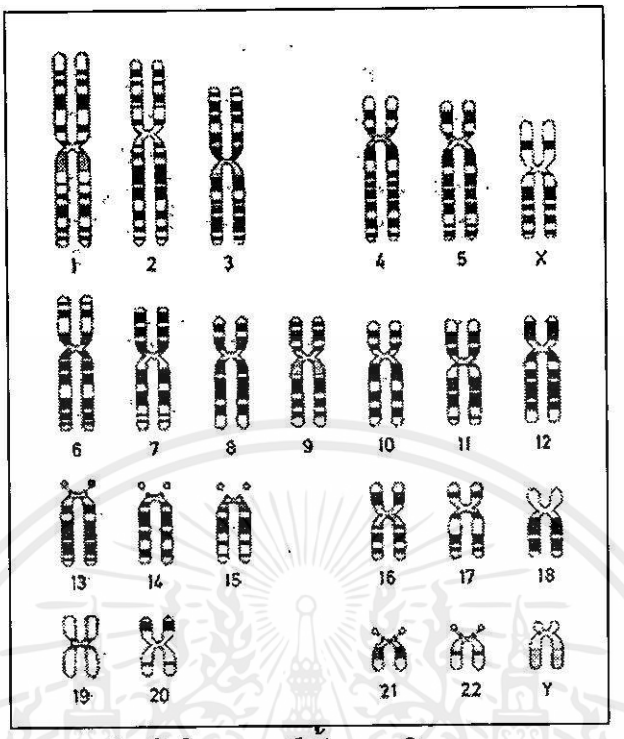
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



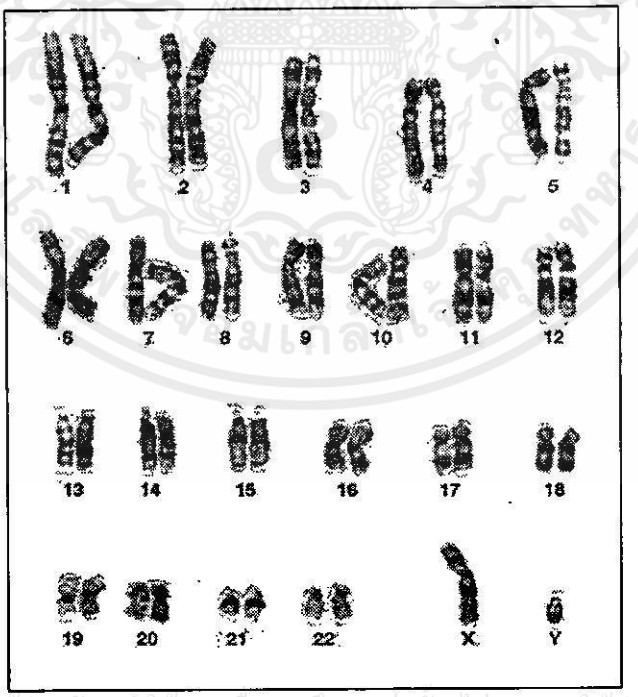
รูปที่ 1.5 หน้าที่การทำงานของยีนตำแหน่งต่างๆ บนโครโมโซม X ของมนุษย์

การจัดเรียงของภาพโครโมโซมที่มีลักษณะเหมือนกันเป็นคู่ๆ โดยมีการกำหนดลำดับที่แน่นอนของโครโมโซมแต่ละคู่ เรียกว่าการจัดคารีโอไทป์ ในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดจะมีรูปแบบการจัดคารีโอไทป์ที่เฉพาะแตกต่างกันออกไป การศึกษาโครงรูปและลักษณะเฉพาะของโครโมโซมแต่ละชนิดนั้น จะทำให้ทราบถึงแนวโน้มของการเกิดโรคทางพันธุกรรมบางชนิดซึ่งมีสาเหตุมาจากความผิดปกติของยีนบนโครโมโซมได้ ในทางการแพทย์ การจัดคารีโอไทป์เป็นวิธีหนึ่งซึ่งใช้ประกอบการวินิจฉัยโรคทางพันธุกรรมบางอย่างได้ ตัวอย่างเช่นโรคดาวซินโดรม ซึ่งเกิดจากความผิดปกติของโครโมโซมคู่ที่ 21 (รูปที่ 1.8) และโรคคลายเฟลเตอร์ซินโดรม ซึ่งเกิดจากความผิดปกติของโครโมโซมเพศ (รูปที่ 1.9) เป็นต้น [1]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

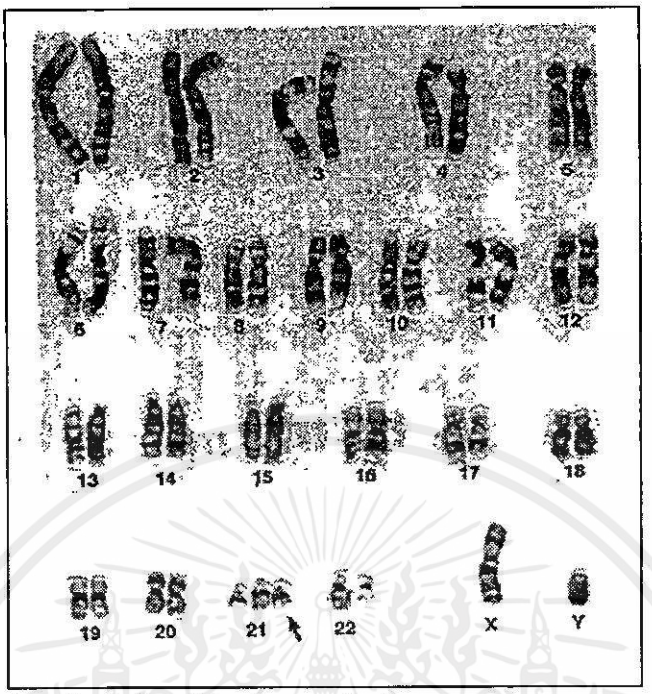


รูปที่ 1.6 แผนผังลักษณะของโครโมโซมมนุษย์ ทั้ง 23 ชนิด

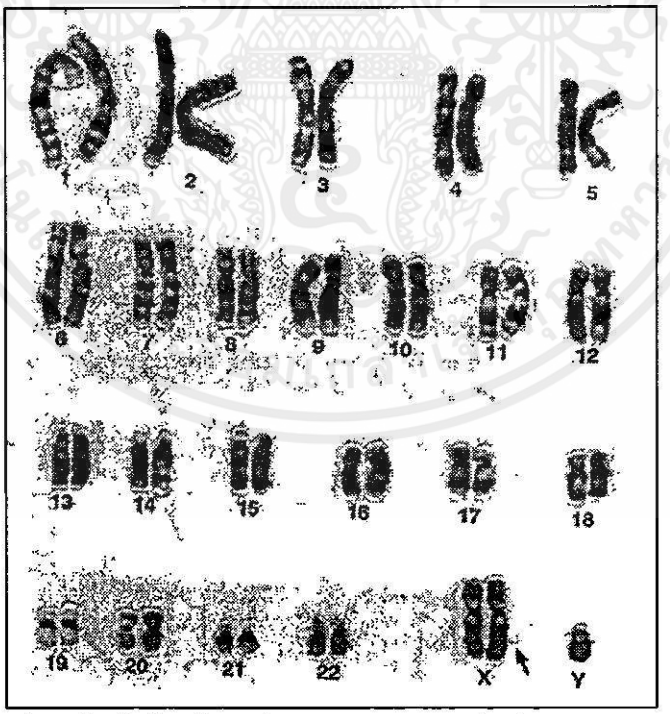


รูปที่ 1.7 คาริโอไทป์ของโครโมโซมคนปกติ(เพศชาย)

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1.8 คาริโอไทป์ของโครโมโซมผู้ป่วยโรค ดาวซินโดรม (เพศชาย)



รูปที่ 1.9 คาริโอไทป์ของโครโมโซมผู้ป่วยโรค คลายเฟลเตอร์ซินโดรม (เพศชาย)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

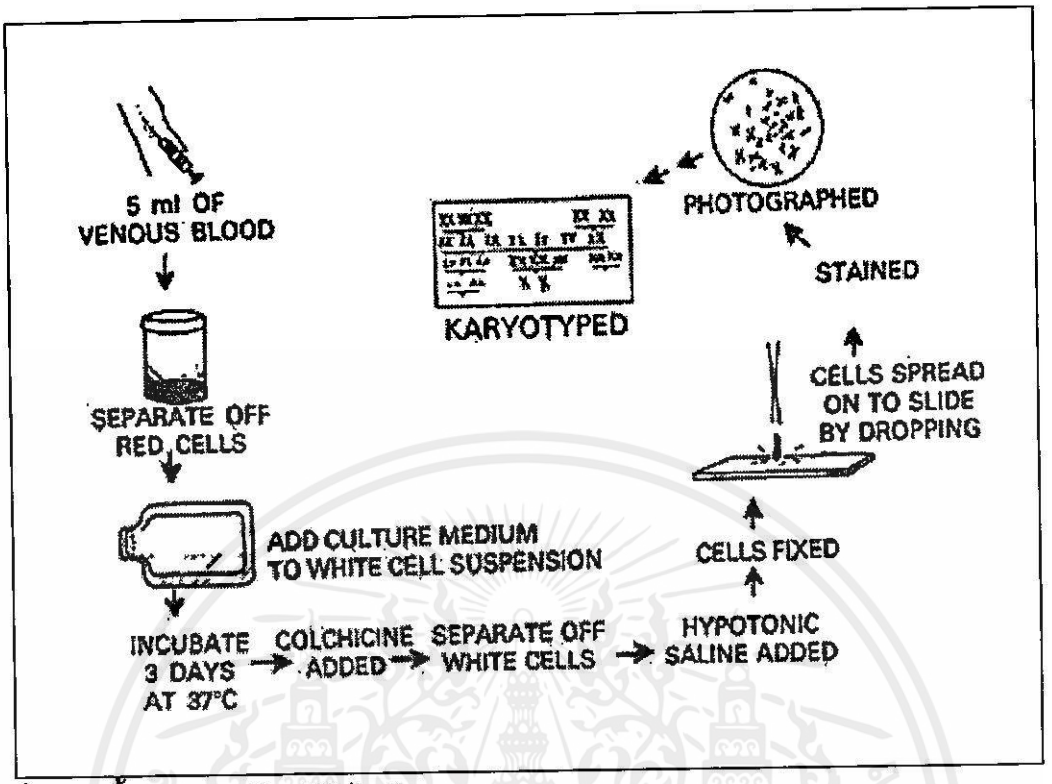
1.2 ขั้นตอนในการเตรียมเซลเพื่อใช้ในการจัดคาริโอไทป์

การจัดคาริโอไทป์มีขั้นตอนต่างๆ โดยสรุปดังนี้

1. จัดเตรียมเซลตัวอย่างที่ต้องการศึกษา ซึ่งอาจได้จากเซลผิวหนัง เซลไขกระดูก หรือเซลเม็ดเลือด โดยใช้เฉพาะเซลเม็ดเลือดขาว
2. นำเซลไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลาประมาณ 3 วัน ซึ่งในระยะนี้จะมีการแบ่งเซลเกิดขึ้น
3. เติมสารเคมีบางชนิดเพื่อยับยั้งการแบ่งเซลให้หยุดอยู่ที่ขั้นเมตาเฟส เนื่องจากในระยะเมตาเฟสนี้โครโมโซมจะขดเกลียวพันกันแน่น ซึ่งจะสังเกตุเห็นได้ชัดเจนที่สุด
4. เติมสารเคมีบางชนิดเพื่อให้โครโมโซมพองตัวออก ซึ่งจะทำให้โครโมโซมกระจายออกห่างกันมากที่สุด
5. นำเซลมาหยดลงบนแผ่นสไลด์และใช้ความร้อนเพื่อให้เซลติดแน่น
6. นำไปย้อมสี
7. ส่องดูด้วยกล้องจุลทัศน์ โดยเลือกเซลที่โครโมโซมกระจายตัวกันมากที่สุดและถ่ายภาพเก็บไว้
8. นำภาพโครโมโซมมาวิเคราะห์และทำการจัดคาริโอไทป์

จะเห็นได้ว่าการจัดคารีโอไทป์มีขั้นตอนที่ยุ่งยากและใช้เวลานานในการเตรียม ทั้งนี้ผลที่ได้ยังขึ้นอยู่กับคุณภาพของภาพถ่ายโครโมโซมที่ได้จากกล้องจุลทรรศน์ ซึ่งอาจขาดความสมบูรณ์เนื่องจากมีสิ่งรบกวน หรือมีการซ้อนทับหักงอของโครโมโซม ทำให้การวิเคราะห์โครโมโซมยากยิ่งขึ้น ดังนั้นการนำเทคนิคทางด้านการประมวลผลภาพ (Digital Image Processing) มาใช้ในงานด้านนี้ นอกจะทำให้ลดระยะเวลาในการวิเคราะห์และจัดเตรียมภาพแล้ว ยังทำให้ผลลัพธ์ที่ได้มีความละเอียดถูกต้องมากยิ่งขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



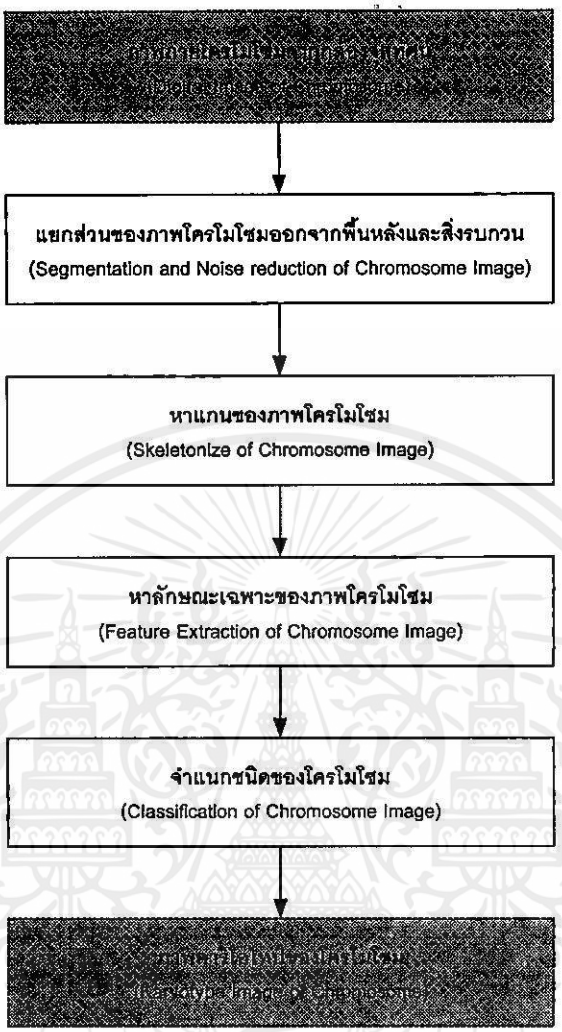
รูปที่ 1.10 ขั้นตอนการจัดคาริโอไทป์

1.3 ขั้นตอนการจัดคาริโอไทป์ด้วยวิธีการทางคอมพิวเตอร์

ภาพถ่ายของโครโมโซมที่ได้จากกล้องจุลทัศน์นั้น สามารถนำมาประมวลผลโดยเทคนิคทางด้านการประมวลผลภาพ และการจดจำรูปแบบ เพื่อทำการจำแนกและจัดคาริโอไทป์ของภาพโครโมโซมได้อย่างรวดเร็ว โดยมีขั้นตอนต่างๆโดยสรุปดังนี้ [2]

1. แยกส่วนของภาพโครโมโซมออกจากพื้นหลังและขจัดสิ่งรบกวนในภาพ
   (Segmentation and noise reduction of chromosome image)
2. หาแกนของภาพโครโมโซม
   (Skeletonize of chromosome image)
3. หาลักษณะเฉพาะของภาพโครโมโซม
   (Feature extraction of chromosome image)
4. จำแนกชนิดของโครโมโซม
   (Classification of chromosome image)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1.11 ขั้นตอนการจัดคาริโอไทป์ด้วยวิธีการทางคอมพิวเตอร์

1.4 วัตถุประสงค์และขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อการศึกษาขั้นตอนวิธี เทคนิค และอัลกอริทึมต่างๆ ในการจำแนกชนิดของโครโมโซม เพื่อนำไปสู่การพัฒนาซอฟแวร์ต้นแบบสำหรับการจัดคาริโอไทป์โดยอัตโนมัติ เริ่มตั้งแต่การนำภาพถ่ายโครโมโซม ซึ่งมีรูปแบบเป็น ระดับของสีเทา (Grayscale) มีความเข้มของจุดภาพ 256 ระดับ เขาสู่ขั้นตอนการประมวลผลภาพ เพื่อขจัดสิ่งรบกวนในภาพและแยกภาพชิ้นโครโมโซมออกจากพื้นหลัง จากนั้นจะเริ่มทดลองใช้เทคนิคต่างๆ ในการหาแกนของภาพโครโมโซม โดยได้นำเสนอวิธีการหาแกนภาพอย่างรวดเร็วโดยใช้วิธี Cubic Splines Interpolation ซึ่งผลของแกนที่ได้จะนำไปใช้ในการหาลักษณะเฉพาะต่างๆของภาพชิ้นโครโมโซม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้อย่างถูกต้อง ลักษณะเฉพาะที่ได้นี้จะใช้เป็นข้อมูลในการจำแนกชนิดของโครโมโซม เพื่อนำไปสู่ขั้นตอนการจัดคาริโอไทป์ต่อไป

ในการทดลองเพื่อทดสอบผลของการจำแนกชนิดโครโมโซมนั้น ภาพของโครโมโซมที่นำมาใช้จะเป็นภาพโครโมโซมที่ไม่มีการซ้อนทับหรืออยู่ติดกันจนไม่สามารถแยกออกจากกันได้ เนื่องจากวัตถุประสงค์หลักในการทดลองนั้น เพื่อวัดความสามารถในการจำแนก โดยอาศัยข้อมูลลักษณะเฉพาะที่ได้จากอัลกอริทึมที่ได้นำเสนอ สำหรับขั้นการแยกภาพโครโมโซมออกจากพื้นหลังหรือการทำเซ็กเมนเตชั่นนั้น เนื่องจาก มีผลงานวิจัยอื่นๆได้นำเสนอไว้เป็นจำนวนมาก ซึ่งผู้สนใจสามารถค้นคว้าได้จากเอกสารอ้างอิง ดังนั้นในงานวิจัยนี้ จะเพียงกล่าวถึงเทคนิคที่ใช้พอสังเขป เพื่อความสมบูรณ์ของขั้นตอนกระบวนการ โดยมิได้เน้นการทดลองในเรื่องนี้

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เข้าใจขั้นตอน และอัลกอริทึมต่างๆ ที่จำเป็นในการจำแนกชนิดของโครโมโซม
2. สามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นเครื่องมือเพื่อช่วยตรวจวินิจฉัยและวิเคราะห์โครโมโซม ในทางการแพทย์ได้
3. เป็นแนวทางในการพัฒนาซอฟแวร์จัดคาริโอไทป์โดยอัตโนมัติ

1.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ผลงานวิจัยเกี่ยกับการจำแนกชนิดของโครโมโซมและการจัดคาริโอไทป์โดยอัตโนมัติส่วนใหญ่นั้นจะกล่าวเน้นเพียงบางขั้นตอน ซึ่งอาจแยกเป็น 3 ประเภทหลักได้แก่ 1. เน้นเรื่องการทำเซ็กเมนเตชั่นของโครโมโซม (Segmentation of Chromosomes) 2. เน้นเรื่องการลักษณะเฉพาะของโครโมโซม (Feature Extraction of Chromosome) 3. เน้นเรื่องการจำแนกโครโมโซม (Classification of Chromosomes) ซึ่งสามารถกล่าวโดยสรุปได้ดังนี้

การแยกภาพของโครโมโซมออกจากพื้น หรือการทำเซ็กเมนเตชั่นของภาพโครโมโซมนั้นได้มีการค้นคว้ากันมาเป็นเวลานานและมีงานวิจัยกล่าวถึงเป็นจำนวนมาก เนื่องจากเทคนิคที่ใช้สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับภาพดิจิตอล อื่นๆได้อีกด้วย ดังเช่นผลงานวิจัยของ J.R Parker [3] ซึ่งได้นำเสนอวิธีการหาค่า เทรสโฮล สำหรับภาพระดับโทนสีเทา โดยในแต่ละส่วนของภาพจะมีการกำหนดค่า เทรสโฮล ซึ่งแตกต่างกันโดยขึ้นอยู่กับค่า เกรเดียน ของแต่ละบริเวณในภาพ ซึ่งวิธีการนี้สามารถนำมาใช้ได้อย่างได้ผลกับภาพถ่ายโครโมโซมจากกล้องจุลทัศน์ซึ่งความเข้มของแสงในภาพแต่ละส่วนไม่สมดุล ส่วนผลงานวิจัยของ S.W. Katz และ A.D. Brink [4] ได้กล่าวถึงการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กำหนดค่า เทรสโฮล หลายค่าเช่นกัน โดยพิจารณาจากระยะทางระหว่างจุดภาพกับชิ้นโครโมโซม เป็นสำคัญ กล่าวคือสำหรับจุดภาพซึ่งมีความเข้มในระดับเดียวกันนั้น จุดภาพซึ่งอยู่ใกล้ชิ้นโครโมโซมมากกว่าน่าจะมีโอกาสเป็นจุดภาพซึ่งอยู่ภายในชิ้นโครโมโซมได้มากกว่าเช่นกัน ซึ่งหลักการนี้จะสามารถช่วยกำจัดสิ่งรบกวนในภาพบางส่วนได้

ในการหาลักษณะเฉพาะของโครโมโซมนั้นจำเป็นต้องอาศัยแนวแกนของโครโมโซมเป็นหลัก เนื่องจากภาพโครโมโซมมักจะมีการโค้งงอซึ่งทำให้ไม่สามารถวัดความยาวและแถบความเข้มของโครโมโซมโดยตรงได้ ผลงานวิจัยของ Frans C.A. GROEN และคณะ [5] ได้เสนอการประมาณค่าแนวแกนของโครโมโซมด้วยวิธี piecewise-linear(PWL) โดยกำหนดแนวแกนของโครโมโซมด้วยการต่อกันของเส้นตรงซึ่งทำมุมต่างๆ โดยมุมของเส้นตรงแต่ละเส้นนั้นได้มาจากการวัดแนวระนาบของแต่ละส่วนบนชิ้นโครโมโซม แนวแกนที่ได้นี้จะเหมาะสำหรับชิ้นโครโมโซมที่มีการหักงอและส่วนที่เหลืออยู่ในแนวตรง แต่ไม่เหมาะสำหรับการหาแกนของโครโมโซมที่มีการโค้งงอตามธรรมชาติ

ในส่วนงานวิจัยซึ่งกล่าวถึงการจำแนกชนิดของโครโมโซมที่น่าสนใจได้แก่ ผลงานของ Phil A. Errington และ Jim Graham [6] ซึ่งใช้เทคนิคนิวรอลเน็ตเวอร์ค โดยใช้ Multi-Layer Perceptron(MLP) ในการจำแนกชนิดของโครโมโซม ผลงานวิจัยของ Jongman Cho และ Seunghong Hong [7] ซึ่งทำการจำแนกชนิดของโครโมโซมโดยใช้เทคนิค Back-Propagation Nerual Network และผลงานวิจัยของ James M. Keller, Paul Gader และ Ozy Sjahputera [8] ซึ่งทำการจดจำภาพโครโมโซมโดยใช้เทคนิค ฟัสซี่โลจิค เป็นต้น

1.7 โครงสร้างของวิทยานิพนธ์

โครงสร้างของวิทยานิพนธ์สามารถแบ่งออกเป็น 3 ส่วนหลักซึ่งมีทั้งหมด 6 บท ดังนี้

ส่วนที่ 1 ประกอบด้วย บทที่ 1 โดยจะกล่าวถึงความรู้พื้นฐานทางชีววิทยาที่เกี่ยวข้อง จุดมุ่งหมายของการทำงานวิจัย และแนวทางในการทำวิจัยโดยสรุป

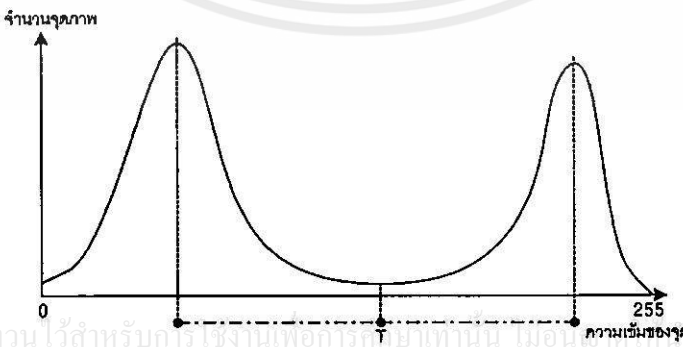
ส่วนที่ 2 ประกอบด้วย บทที่ 2, 3, และ 4 โดยกล่าวถึงขั้นตอนวิธี เทคนิค และอัลกอริทึ่มต่างๆ โดยละเอียด ที่ได้นำมาใช้ในการหาลักษณะเฉพาะและจำแนกชนิดของโครโมโซม

ส่วนที่ 3 ประกอบด้วย บทที่ 5 และ 6 ซึ่งเป็นส่วนของการทดลอง ผลการทดลองและสรุป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

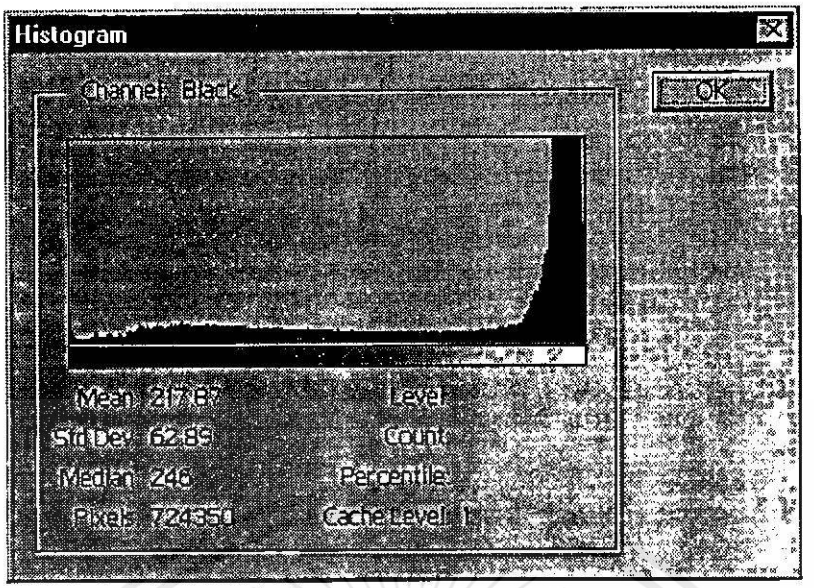
บทที่ 2
การแยกภาพโครโมโซมออกจากพื้นหลัง

ภาพถ่ายของโครโมโซมที่ได้จากกล้องจุลทัศน์นั้น เป็นภาพระดับโทนสีเทาซึ่งมีความเข้ม 256 ระดับ โดยค่าที่เก็บในแต่ละจุดภาพ (pixel) จะเป็นค่าของระดับความสว่างซึ่งจะมีทั้งหมด 256 ระดับเช่นกัน โดยพื้นสีขาวจะแทนด้วยค่าความสว่าง 256 ส่วนสีดำจะมีค่าความสว่างเป็น 0 ดังนั้นบริเวณพื้นหลังของภาพ ซึ่งเป็นสีขาว จะมีระดับความสว่างสูง ส่วนบริเวณเนื้อของโครโมโซม ซึ่งเป็นสีเทาดำ จะมีระดับความสว่างต่ำ การแยกส่วนของชิ้นโครโมโซมออกจากพื้นหลังนั้น ทำได้โดยการกำหนดค่า เทรสโฮล ที่เหมาะสม ซึ่งค่า เทรสโฮลนี้จะเป็นตัวกำหนดว่าจุดภาพใดๆ ซึ่งมีความสว่างสูงกว่าค่า เทรสโฮลจะเป็นส่วนของพื้นหลัง ส่วนจุดภาพซึ่งมีความสว่างต่ำกว่า เทรสโฮลจะเป็นส่วนของวัตถุ หรือชิ้นของโครโมโซม วิธีการโดยทั่วไปสำหรับการหาค่า เทรสโฮลของภาพ ระดับโทนสีเทา อาจทำได้โดยใช้เทคนิคของการสร้าง ฮิสโตแกรม ของค่าความสว่างแต่ละค่าของจุดภาพโดยนำมาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ระดับของความสว่าง (แกน X) กับจำนวนของจุดภาพ (แกน Y) ซึ่งมีลักษณะเป็น bimodal histogram [9] ดังภาพ (รูปที่ 2.1) ค่าเทรสโฮล(T) จะหาได้จากระยะกึ่งกลางของจุดยอดในรูปกราฟ แต่สำหรับภาพ ระดับโทนสีเทาของโครโมโซมนั้น อาจไม่สามารถหาค่า เทรสโฮลด้วยวิธีการนี้ได้ เนื่องจากจำนวนจุดภาพของเนื้อวัตถุและจำนวนจุดภาพบริเวณพื้นหลัง มีจำนวนแตกต่างกันมากซึ่งไม่สมดุลกัน ฮิสโตรแกรมของภาพจึงไม่มีลักษณะเป็น bimodal ที่ชัดเจน (รูปที่ 2.2) ซึ่งทำให้เป็นการยากในการหาจุดยอดและอาจได้ค่าที่ไม่เหมาะสม สำหรับการหาค่า เทรสโฮลที่เหมาะสมของภาพโครโมโซมนั้นจะสามารถทำได้โดยใช้เทคนิคการหาความชันของระดับความเข้ม (Intensity Gradient) ของภาพเข้ามาช่วย ซึ่งจะกล่าวในรายละเอียดต่อไป



รูปที่ 2.1 A bimodal histogram

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.2 ฮิสโตรแกรม ของภาพโครโมโซม

2.1 การหาค่าเทรสโฮลด้วยวิธี Intensity Gradient Threshold Base Method

ความชันของระดับความเข้ม (Intensity gradient) หรือค่า G คือค่าความแตกต่างของระดับความเข้มของจุดภาพกับจุดภาพซึ่งอยู่ประชิดกันโดยรอบทั้ง 8 ทิศทาง ซึ่งบริเวณขอบของภาพวัตถุจะมีค่า G สูงกว่าบริเวณพื้นที่ส่วนอื่นๆ ของภาพเนื่องจากมีความแตกต่างระหว่างความเข้มของจุดภาพภายในวัตถุกับจุดภาพนอกวัตถุซึ่งอยู่ประชิดกัน ดังนั้นจะสามารถหาค่า เทรสโฮล (T) ได้โดยคำนวณจากค่าความเข้มของจุดภาพบริเวณที่มีค่า G สูงๆนั่นเอง [3]

ด้วยหลักการดังกล่าวจะสามารถคำนวณหาค่า T ที่เหมาะสมได้ด้วยขั้นตอนดังต่อไปนี้

1) หาค่าเกรเดียน (G) ของทุกๆ จุดภาพ
2) คำนวณค่าเฉลี่ยของ เกรเดียน $(\overline{G})$
3) คำนวณหาค่า เทรสโฮลจากจุดภาพซึ่ง $G > \overline{G}$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.3 Intensity Gradient ของภาพโครโมโซม

จากภาพ จุดสีขาวแสดงถึงบริเวณที่มีค่า G สูง ซึ่งมักจะอยู่บริเวณขอบของโครโมโซม

การหาค่าเกรเดียนของภาพโครโมโซม

ค่าเกรเดียนของแต่ละจุดภาพใดๆ สามารถคำนวณหาได้จาก ความสัมพันธ์ดังนี้

$$G(i,j) = Max\left(I(i+\alpha_i, j+\alpha_j) - I(i,j) \right) \qquad (2.1)$$

โดยที่

G = intensity gradient

I = ความสว่างของจุดภาพ

$\alpha_i = (-1,1)$

$\alpha_j = (-1,1)$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่า G จะถูกกำหนดกรอบให้อยู่ในช่วง 0 ถึง 255 โดยค่า G ที่มีค่าน้อยกว่า 0 จะกำหนดให้เป็น 0

ตัวอย่างการคำนวณค่า G ของจุดภาพ p ใดๆ(ดูรูป 2.4 ประกอบ)

P_3(150)	P_2(60)	P_1(25)
P_4(200)	P(100)	P_0(35)
P_5(150)	P_6(50)	P_7(45)

รูปที่ 2.4 ค่าความสว่างของจุดภาพ p และจุดประชิด

จากภาพ จุด P มีค่าความสว่างเป็น 100 ส่วนจุดประชิด P_0 - P_7 มีค่าความสว่างเป็น 35, 25, 60, 150, 200, 150, 50 และ 45 ตามลำดับ จะได้

$$G_P = MAX[(P_0 - P),(P_1 - P),(P_2 - P),(P_3 - P),(P_4 - P),(P_5 - P),(P_6 - P),(P_7 - P)]$$

$$G_P = MAX[(35-100),(25-100),(60-100),(150-100),$$
$$(200-100),(150-100),(50-100),(45-100)]$$

$$G_P = MAX[(-65),(-75),(-40),(50),(100),(50),(-50),(-65)]$$

$$G_P = 100$$

คำนวณหาค่าเฉลี่ยของ เกรเดียน $(\overline{G})$ โดยใช้ฮิสโตรแกรม

กำหนดให้ H[256] เป็น Array 0 ถึง 255

i คือลำดับของจุดภาพ

G[i] คือค่า เกรเดียน ของจุดภาพลำดับที่ i

FOR ทุกๆ จุดภาพ i

H[G[i]] = H[G[i]] + 1 {นับจำนวนจุดภาพ แยกตามค่า เกรเดียน}

END

{ นำค่า G ซึ่ง H[G] > 0 มาคำนวณหาค่าเฉลี่ย $(\overline{G})$ }

n คือ จำนวน ฮิสโตรแกรม ซึ่ง H[G] > 0

$$\overline{G} = \frac{\sum G}{n}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น โดยไม่ได้รับอนุญาตจากผู้เขียน และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

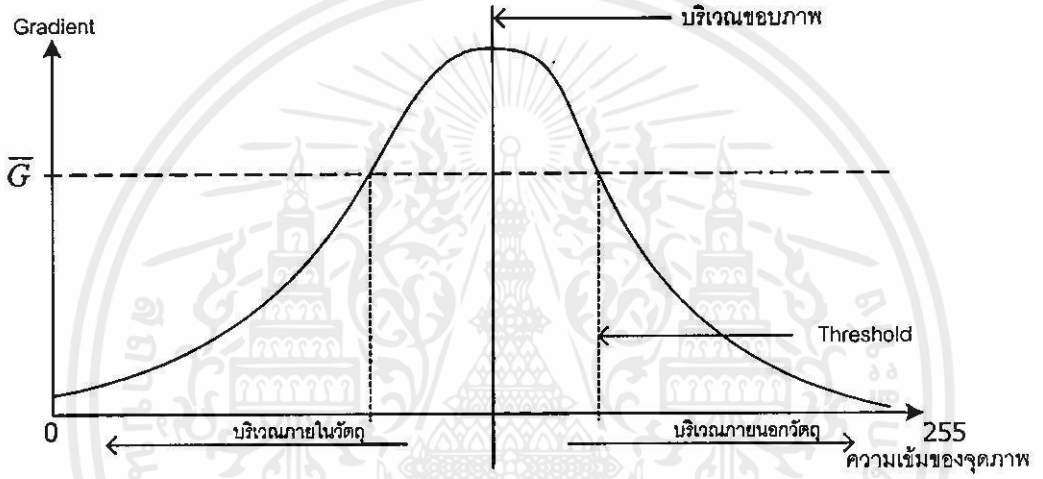
สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

คำนวณค่าเทรสโฮล

นำเฉพาะค่าความสว่างของจุดภาพ (i) ซึ่งค่า $G[i] > \overline{G}$ มาคำนวณหาค่า T

$T = Max(I[i])$ เมื่อ I = ความสว่างของจุดภาพ

ค่า เทรสโฮลก็คือค่าความสว่างของจุดภาพสูงสุด ซึ่งอยู่ในบริเวณที่ $G[i] > \overline{G}$



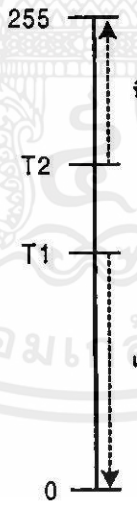
รูปที่ 2.5 การหาค่า เทรสโฮลจากเกรเดียนของภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

35711

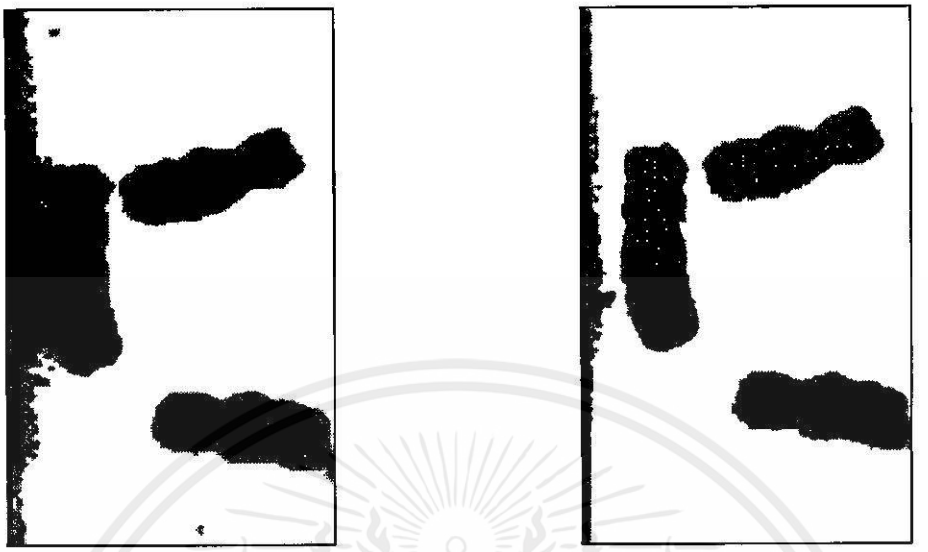
2.2 การทำเซ็กเมนเตชั่นโดยใช้ Double Threshold

เมื่อค่าความเข้มของสิ่งรบกวน (Noise) ในภาพมีค่าใกล้เคียงกับความเข้มของวัตถุ การใช้ค่า เทรสโฮลเพียงค่าเดียวเพื่อแยกวัตถุออกจากพื้นหลังนั้นจะไม่สามารถทำได้อย่างสมบูรณ์ เนื่องจากสิ่งรบกวนในภาพจะถูกมองเห็นเป็นเนื้อวัตถุไปด้วย(รูปที่ 2.7a) ในขณะที่ทำการลดค่าเทรสโฮลลง เพื่อจะขจัดสิ่งรบกวนออกไป จะพบว่าบริเวณพื้นที่บางส่วนของวัตถุซึ่งมีความเข้มใกล้เคียงกับสิ่งรบกวนก็อาจถูกตัดออกไปด้วยเช่นกัน ปัญหานี้อาจแก้ไขได้หลายวิธี สำหรับในงานวิจัยนี้จะแก้ไขโดยกำหนดเทรสโฮลขึ้น 2 ค่า [4] คือ T1 และ T2 โดย T1 เป็นค่า เทรสโฮล ปกติซึ่งคำนวณได้จาก intensity gradient Threshold base method ส่วน T2 จะมีค่ามากกว่า T1 เล็กน้อย อาจกำหนดไว้ประมาณ 20% จุดภาพซึ่งมีค่าความสว่างน้อยกว่า T1 จะถูกพิจารณาเป็นส่วนของเนื้อวัตถุ ส่วนจุดภาพซึ่งมีค่าความสว่างมากกว่า T2 จะถูกพิจารณาเป็นส่วนของพื้นหลัง จุดภาพที่มีค่าความสว่างอยู่ระหว่าง T1 กับ T2 จะถูกกำหนดให้เป็นเนื้อวัตถุก็ต่อเมื่อ มีจุดภาพอย่างน้อย 1 จุดในบริเวณรอบๆรัศมี 10 จุด มีค่าความสว่างน้อยกว่า T1 ด้วยเทคนิคดังกล่าว จะทำให้สามารถขจัดสิ่งรบกวนบางส่วนออกไปได้โดยไม่ทำให้สูญเสียเนื้อภาพของโครโมโซมไป (รูปที่ 2.7b)



รูปที่ 2.6 การพิจารณาความสว่างของจุดภาพกับ เทรสโฮล 2 ค่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



a. b.

รูปที่ 2.7 ผลการทำ Segmentation โดยใช้ Double Threshold

ในภาพ a. เมื่อใช้ เทรสโฮล เพียงค่าเดียว สิ่งรบกวน ซึ่งเป็นแถบเงาดำของพื้นหลังจะถูกมองเป็นเนื้อวัตถุ ส่วนในภาพ b. เมื่อใช้ เทรสโฮล 2 ค่า จะสามารถขจัดสิ่งรบกวนออกไปได้โดยไม่สูญเสียบริเวณเนื้อภาพของโครโมโซมไป

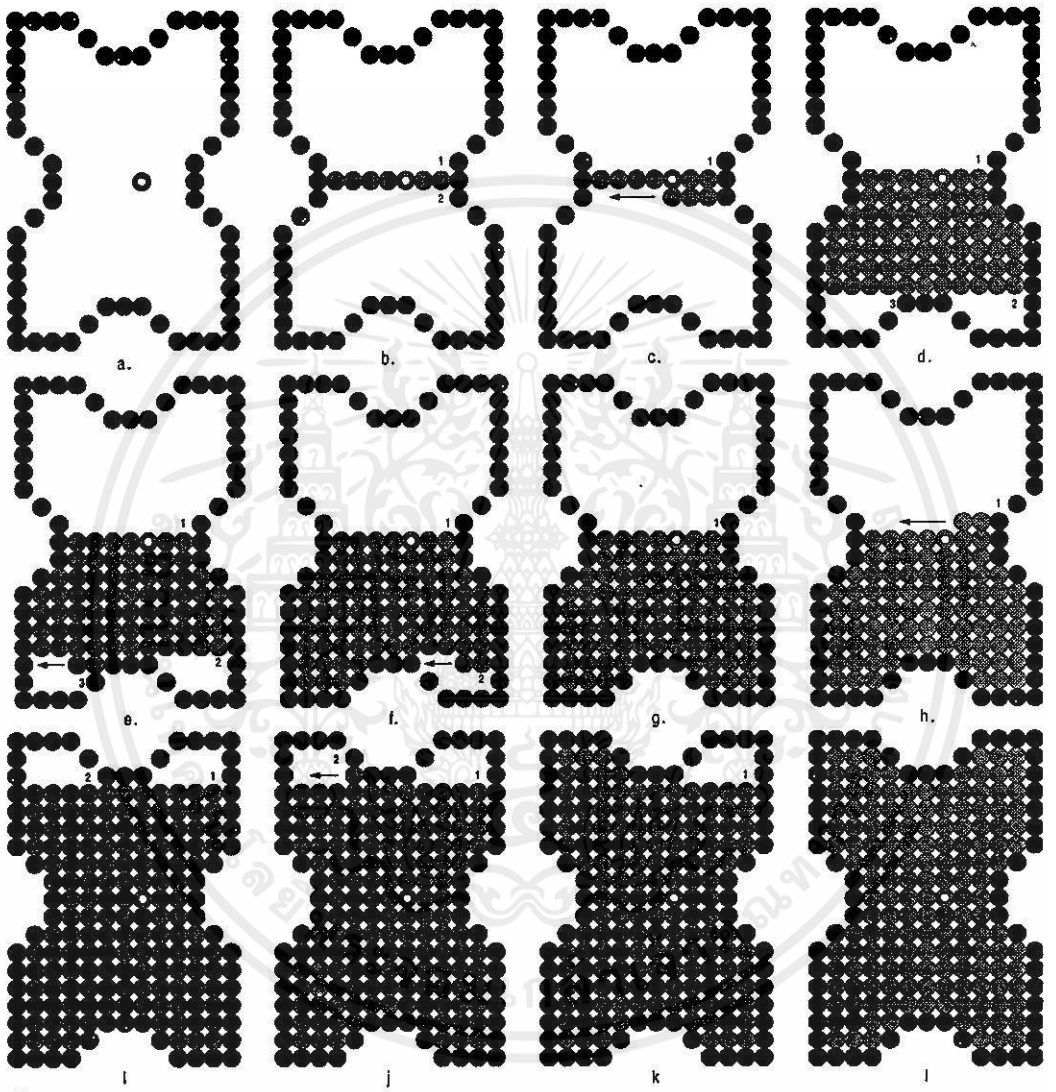
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 การหาขอบและแยกส่วนของโครโมโซมออกจากพื้นหลัง

เมื่อสามารถกำหนดค่าเทรสโฮล ที่เหมาะสมได้แล้ว การหาขอบภาพโครโมโซมจะต้องปรับภาพโครโมโซมให้อยู่ในรูปของไบนารี่ โดยจุดภาพซึ่งเป็นเนื้อของโครโมโซมจะแทนค่าด้วย 1 ส่วนจุดภาพซึ่งเป็นพื้นหลังจะแทนค่าด้วย 0 จากภาพไบนารี่ของโครโมโซม จะสามารถกำหนดขอบภาพได้ โดยขอบภาพคือบริเวณซึ่งจุดภาพ มีค่าเท่ากับ 1 และมีจุดประชิดอย่างน้อย 1 จุดซึ่งมีค่าเป็น 0 จากนั้นทำการแยกส่วนของชิ้นโครโมโซมแต่ละชิ้นออกจากพื้นหลัง โดยใช้ Seed-fill algorithm [10] ดังนี้

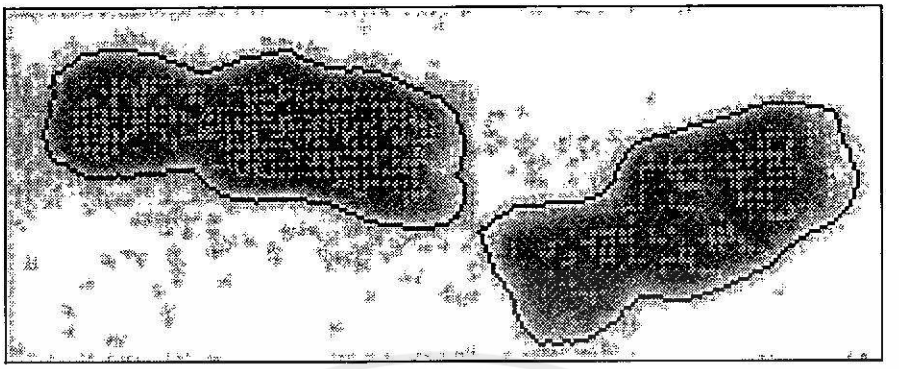
1) กำหนดจุดเริ่มต้น ให้อยู่ภายในภาพวัตถุ
2) สแกนจุดภาพทุกจุดตามแนวนอนโดยเริ่มจากขอบภาพขวาสุดไปยังขอบภาพซ้ายสุด และเก็บข้อมูลตำแหน่งของจุดภาพที่ผ่านทั้งหมด
3) สแกนแถวของจุดภาพซึ่งอยู่เหนือขึ้นไปจากจุดเริ่มต้น 1 แถว หาจุดภาพซึ่งด้านขวาประชิดกับขอบภาพ
4) เก็บตำแหน่งของจุดภาพในข้อ 3) ลงแสตก เพื่อใช้เป็นจุดเริ่มต้นต่อไป
5) สแกนแถวของจุดภาพซึ่งอยู่ต่ำกว่าจุดเริ่มต้นลงมา 1 แถว หาจุดภาพซึ่งด้านขวาประชิดกับขอบภาพ
6) เก็บตำแหน่งของจุดภาพในข้อ 5) ลงแสตก เพื่อใช้เป็นจุดเริ่มต้นต่อไป
7) กำหนดจุดเริ่มต้น โดยใช้ตำแหน่งของจุดภาพซึ่งอยู่บนสุดของแสตก และเริ่มทำซ้ำตั้งแต่ข้อ 2)
8) ทำซ้ำ 2) ถึง 7) จนกระทั่งแสตกว่าง และเก็บข้อมูลตำแหน่งของจุดภาพภายในวัตถุครบทุกจุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.8 การทำงานของ Seed-fill algorithm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.9 ผลของการหาขอบภาพโครโมโซมด้วย Seed-fill algorithm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
การหาแกนของภาพโครโมโซม

เนื่องจากรูปร่างของโครโมโซมตามธรรมชาตินั้นอาจมีการโค้งงอได้อย่างอิสระ ดังนั้น การวัดความยาวและลักษณะเฉพาะอื่น ๆ เพื่อนำมาใช้ในการจำแนกชนิดนั้นจึงทำได้ยาก อย่างไรก็ตามการหาลักษณะเฉพาะต่าง ๆ จะสามารถทำได้ง่ายขึ้นโดยอาศัยการอ้างอิงจากแกนของภาพซึ่งมีลักษณะโค้งงอไปตามรูปร่างของโครโมโซม

รูปที่ 3.1 แกนของภาพโครโมโซม

การหาแกนของภาพชิ้นโครโมโซมนั้นสามารถทำได้หลายวิธี ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้ทำการทดลองทั้งหมด 3 วิธีได้แก่ 1. การทำภาพให้บาง (Thinning), 2. การทำ Median Axis Transform และ 3. การหาแกนจากการทำ Cubic Splines Interpolation จากนั้นได้คัดเลือกวิธีการที่เหมาะสมโดยพิจารณาจากความเร็วในการทำงาน และคุณภาพของเส้นแกนที่ได้ เพื่อจะนำไปใช้เพื่อหาลักษณะเฉพาะต่างๆ ของชิ้นโครโมโซมต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1 การหาแกนด้วยวิธีทำภาพให้บาง (Thinning)

ภาพชิ้นโครโมโซมซึ่งมีการโค้งงอตามธรรมชาติ จะสามารถหาแกนได้ด้วยวิธีทำให้บาง (Thinning) [11] โดยทำการลบจุดภาพซึ่งเป็นขอบภาพออกไปทีละชั้น ๆ โดยต้องไม่ทำให้ภาพแยกออกจากกัน จนกระทั่งเหลือเส้นแกนเพียงเส้นเดียว

ภาพโครโมโซมซึ่งนำมาใช้ในการทำภาพให้บางนี้จะเป็นภาพที่มีข้อมูลเป็นแบบไบนารี่ โดยจุดภาพที่มีค่าเป็น 1 แทนส่วนที่เป็นชิ้นโครโมโซม และ จุดภาพที่มีค่าเป็น 0 แทนส่วนที่เป็นพื้นหลัง ในการทำภาพให้บางนั้นจะทำการพิจารณาจุดภาพทุกจุดทีละจุด โดยการสแกนภาพจากด้านซ้ายไปด้านขวา และด้านบนลงด้านล่าง ณ จุดภาพใด ๆ ที่กำลังพิจารณาว่าเป็นจุดที่เป็นแกนหลักหรือไม่นั้น จะต้องพิจารณาจุดภาพที่อยู่รอบ ๆ ซึ่งเรียกว่า จุดประชิด (Neighborhood) จุดประชิดจะมีทั้งหมด 8 จุดใน 8 ทิศทาง ดังแสดงในรูปที่ 3.2 (จุด p_0 , p_1 , p_2 , p_3 , p_4 , p_5 , p_6 , และ p_7 เป็นจุดประชิดของจุด P)

P_3	P_2	P_1
P_4	P	P_0
P_5	P_6	P_7

รูปที่ 3.2 จุดภาพและจุดประชิด

จุดภาพ p จะเป็นจุดที่เป็นแนวแกนก็ต่อเมื่อ จุด p และจุดประชิดมี pattern ข้อมูลตรงตาม pattern ในรูปที่ 3.3 รายละเอียดขั้นตอนการพิจารณาว่าจุดภาพใด ๆ เป็นไปตามรูปแบบของข้อมูลทั้ง 6 รูปแบบนั้น ได้แสดงใน Thinning Algorithm ดังจะกล่าวต่อไป

A	A	A
0	P	0
B	B	B

A	0	B
A	P	B
A	0	B

A	A	A
A	P	0
A	0	2

A	A	A
0	P	A
2	0	A

2	0	A
0	P	A
A	A	A

A	0	2
A	P	0
A	A	A

รูปที่ 3.3 Pattern ของจุดภาพและจุดประชิดที่เป็นแกนหลักของโครโมโซม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยกำหนดสัญลักษณ์ดังนี้

0 หมายถึง ตำแหน่งของจุดภาพซึ่งเป็นพื้นหลัง

1 หมายถึง ตำแหน่งของจุดภาพซึ่งเป็นเนื้อวัตถุ

2 หมายถึง ตำแหน่งของจุดภาพซึ่งเป็นแกนของวัตถุ

A, B หมายถึง กลุ่มของจุดภาพซึ่งต้องมีอย่างน้อย 1 จุดภาพซึ่งมีค่าไม่เท่ากับ 0

Thinning Algorithm

I : แทน Input Image

P : แทน Pattern {แสดงในรูปที่ 3.3 ซึ่งมี 6 Pattern}

```
SET remain = true
WHILE remain is true DO
        SET remain = false
        FOR j = 0,2,4,6 DO      { จุด p0 , p2 , p4 , p6 }
                FOR all pixels p of the image I DO
                        IF p = 1 and value at position j is 0 THEN
                                SET skel = false
                                FOR all patterns P DO
                                        IF p neighborhood matches with pattern P THEN
                                                SET skel = true
                                                EXIT LOOP FOR
                                        END IF
                                END FOR
                                IF skel = true THEN
                                        SET p = 2  {skeletal pixel}
                                ELSE
                                        SET p = 3  {deletable pixel}
                                        SET remain = true
                                END IF
                        END IF
```

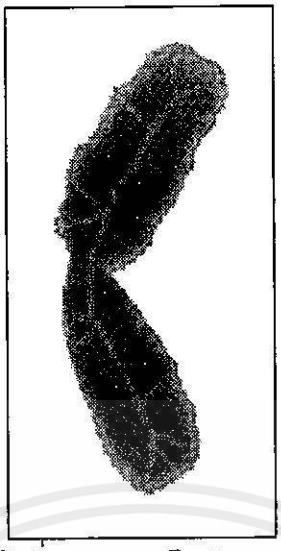
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

```
            END FOR
            FOR all pixels p of I DO
                IF p is 3 THEN SET p = 0
            END FOR
        END FOR
END WHILE
```

Thinning Algorithm มีการทำงานโดยเริ่มจากกำหนดค่า flag remain เป็น true เพื่อบอกถึงสถานะว่ายังมีส่วนของจุดภาพซึ่งไม่ใช่แกนของวัตถุเหลืออยู่ และทำซ้ำใน WHILE LOOP จนกว่า remain จะถูกเปลี่ยนค่าเป็น false เมื่อเข้าใน WHILE LOOP จะเริ่ม SET remain เป็น false และถ้าไม่มีการเปลี่ยนแปลงใดๆ กับจุดภาพ ก็จะไม่มีการเปลี่ยนแปลงค่าของ remain ซึ่งจะเป็นการจบการทำงานของ WHILE LOOP ลำดับถัดมาใน FOR LOOP จะกำหนดให้ j มีค่าเป็น 0, 2, 4, 6 ซึ่งหมายถึงตำแหน่งของจุดซึ่งอยู่ประชิดกับจุด p (รูปที่ 3.2) จากนั้นให้กระทำกับทุกๆ จุดภาพ p โดยตรวจสอบว่า ถ้า p มีค่าเท่ากับ 1 (หมายถึง ส่วนชิ้นโครโมโซม) และตำแหน่งจุดประชิด j มีค่าเท่ากับ 0 (หมายถึง ส่วนที่เป็นพื้นหลังของภาพ) ให้ตรวจสอบรูปแบบของจุด p กับจุดล้อมรอบว่าตรงกับ pattern P (รูปที่ 3.3) หรือไม่ ถ้าตรงกันแสดงว่าเป็นตำแหน่งของแกนภาพ ให้ SET ค่า p เท่ากับ 2 แต่ถ้าไม่ตรงให้ SET ค่า p เท่ากับ 3 และ SET ค่า remain เท่ากับ true เมื่อทำครบทุกจุดในภาพแล้ว ให้ทำการลบจุดซึ่ง p มีค่าเท่ากับ 3 ออกโดยแทนค่าด้วย 0 algorithm นี้จะทำซ้ำจนกระทั่งจุดภาพซึ่งไม่ใช่แกนของโครโมโซมถูกลบออกจนหมดและเหลือเฉพาะแกนของโครโมโซมไว้

อย่างไรก็ตามการทำ Thinning อาจไม่สามารถหาแกนโครโมโซมที่สมบูรณ์ได้ในหลายๆ กรณีเช่น เมื่อภาพชิ้นโครโมโซมมีขอบที่ไม่เรียบ ก็อาจทำให้มีเส้นขาดเป็นช่วงๆ หรือเกิดเส้นกิ่งได้ (รูปที่ 3.4)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.4 แกนโครโมโซมที่เกิดเป็นเส้นกิ่งและขาดเป็นช่วงๆ จากการทำภาพให้บาง

3.2 การปรับขอบภาพด้วยวิธีไดเลชั่น

เพื่อให้ได้แกนโครโมโซมที่สมบูรณ์ การปรับขอบภาพชิ้นโครโมโซมให้เรียบจึงเป็นขั้นตอนซึ่งมีความจำเป็นอย่างยิ่ง ในการเตรียมภาพก่อนเข้าสู่กระบวนการทำภาพให้บาง ซึ่งการลบรอยหยักและปรับขอบภาพให้เรียบนั้นสามารถทำได้ด้วยเทคนิคไดเลชั่น [11]

$$D = B \oplus S = \{x, y | S_{x,y} \cap B \neq 0\} \qquad (3.1)$$

จากสมการ (3.1) D คือ Output Image ซึ่งได้จากการ dilating เซ็ตของจุดภาพ B(เนื้อวัตถุ) ด้วยเซ็ตของจุดภาพ S(ภายนอกวัตถุ) โดยที่ S ซึ่งอยู่ในตำแหน่ง x,y ใดๆ จะถูกแปลงเป็นเนื้อวัตถุ ก็ต่อเมื่อ S อินเตอร์เซ็กชั่น(Intersection) กับ B ได้เป็นเซ็ตว่าง

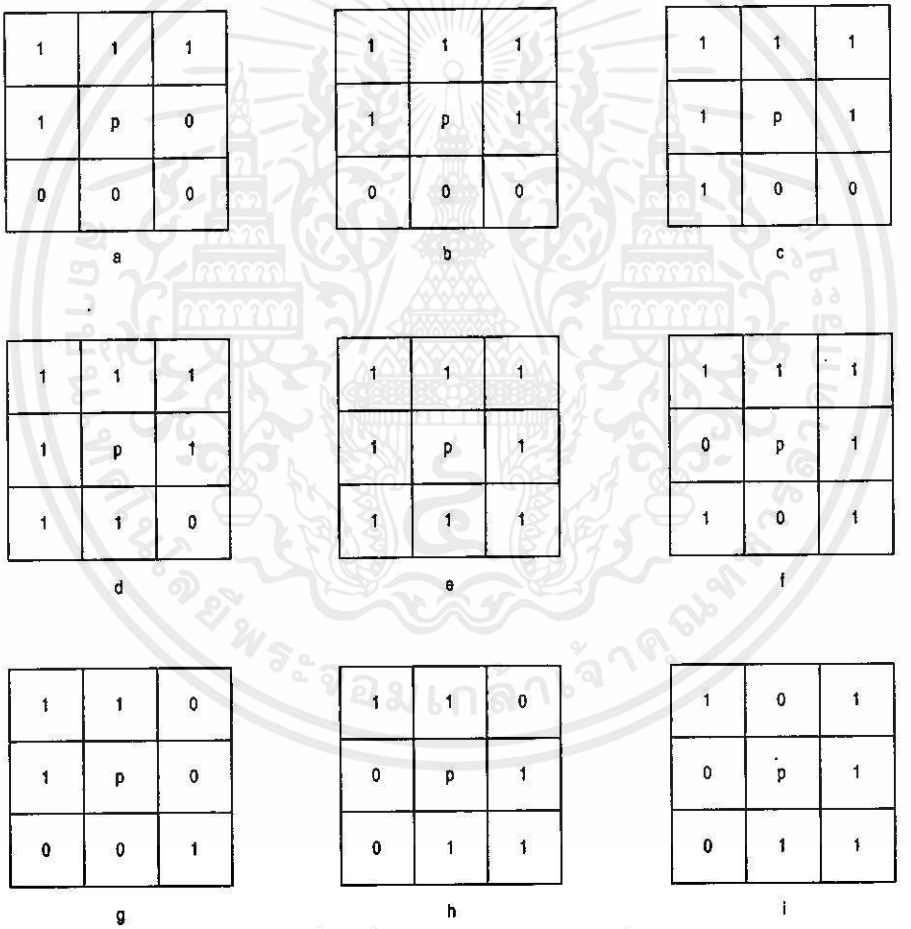
การทำไดเลชั่น เป็นการขยายขอบของชิ้นโครโมโซม โดยพิจารณาจุดภาพพื้นหลังบริเวณขอบของชิ้นโครโมโซม เพื่อกำหนดให้เป็นจุดภาพบนส่วนของชิ้นโครโมโซม กล่าวคือ "จุดภาพภายนอกวัตถุ (ชิ้นโครโมโซม) ใดๆ ที่อยู่ประชิดกับภาพวัตถุ (ชิ้นโครโมโซม) จะถูกกำหนดให้เป็นจุดภาพภายในของวัตถุ (ชิ้นโครโมโซม) ก็ต่อเมื่อจุดภาพนั้นๆ มีจุดประชิดซึ่งเป็นจุดภาพซึ่งอยู่ภายในวัตถุ(โครโมโซม)" บริเวณของการขยายขอบของภาพชิ้นโครโมโซมจะมากหรือน้อย จะขึ้นอยู่กับการกำหนดค่าสัมประสิทธิ์ไดเลชั่น (Dilation Coefficient) และจำนวนรอบของการทำไดเลชั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น

ค่าสัมประสิทธิ์ไดเลชั่น เป็นค่าที่แสดงว่าเมื่อใดจึงจะกำหนดจุดภาพที่กำลังพิจารณาอยู่ (ซึ่งเป็นจุดภาพพื้นหลังและอยู่ชิดกับขอบวัตถุ) ให้เป็นจุดภาพภายในของวัตถุ (ชิ้นโครโมโซม) และ

ค่าสัมประสิทธิ์นี้ก็เป็นค่าที่ควบคุมบริเวณของการขยายขอบของวัตถุ (ชิ้นโครโมโซม) ด้วย ค่าสัมประสิทธิ์ไดเลชั่น เมื่อกำหนดเท่ากับ x หมายถึง ณ. จุดภาพ p ใดๆ ซึ่งเป็นจุดภาพที่พิจารณา (จะพิจารณาเฉพาะจุดภาพที่เป็นส่วนพื้นหลังเท่านั้น) จะถูกกำหนดให้เป็นจุดภาพที่เป็นส่วนของชิ้นโครโมโซม ก็ต่อเมื่อมีจุดประชิดจำนวนมากกว่าหรือเท่ากับ x จุดขึ้นไปเป็นจุดภาพที่เป็นส่วนของชิ้นโครโมโซม

ตัวอย่างในรูปที่ 3.5 จุด p เป็นจุดภาพพื้นหลังใด ๆ ที่พิจารณา (จุด p มีค่าเป็น 0) เมื่อกำหนดให้ ค่าสัมประสิทธิ์ไดเลชั่น เท่ากับ 4 จะได้ว่า ถ้าจุด p มีจุดประชิดที่เป็นส่วนของชิ้นโครโมโซมมากกว่าหรือเท่ากับ 4 จุดขึ้นไปแล้ว จุด p จะถูกกำหนดให้เป็นจุดที่เป็นส่วนของชิ้นโครโมโซมด้วย (กำหนดให้ค่าจุด p เปลี่ยนจาก 0 เป็น 1)



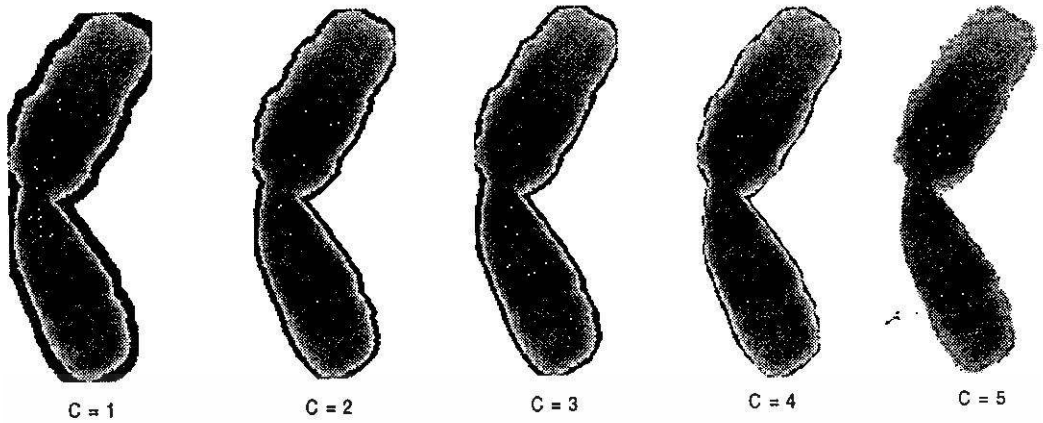
รูปที่ 3.5 ตัวอย่างจุดภาพที่ทำไดเลชั่น เมื่อค่าสัมประสิทธิ์ไดเลชั่น เท่ากับ 4

0 คือ จุดภาพส่วนที่เป็นพื้นหลัง

1 คือ จุดภาพส่วนที่เป็นชิ้นโครโมโซม

p คือ จุดภาพที่พิจารณา ซึ่งต้องเป็นจุดภาพส่วนที่เป็นพื้นหลังเท่านั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.6 การทำไดเลชั่นจำนวน 5 รอบ โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์แตกต่างกัน

ค่าสัมประสิทธิ์ไดเลชั่น ที่แตกต่างกันจะเป็นตัวกำหนดลักษณะการขยายตัวของขอบภาพให้มีลักษณะแตกต่างกันไป ดังภาพ(รูป 3.6) ดังที่กล่าวข้างต้นว่า การทำไดเลชั่นเป็นการปรับขอบของวัตถุให้เรียบ ซึ่งในงานวิจัยนี้หมายถึง ขอบของชิ้นโครโมโซม ซึ่งจะทำกี่รอบก็ได้แต่จำนวนรอบที่เหมาะสมของการทำ ไดเลชั่นจะขึ้นอยู่กับลักษณะของความลึกของรอยหยักบริเวณขอบภาพในแต่ละภาพนั่นเอง

อัลกอริทึมในการทำไดเลชั่น

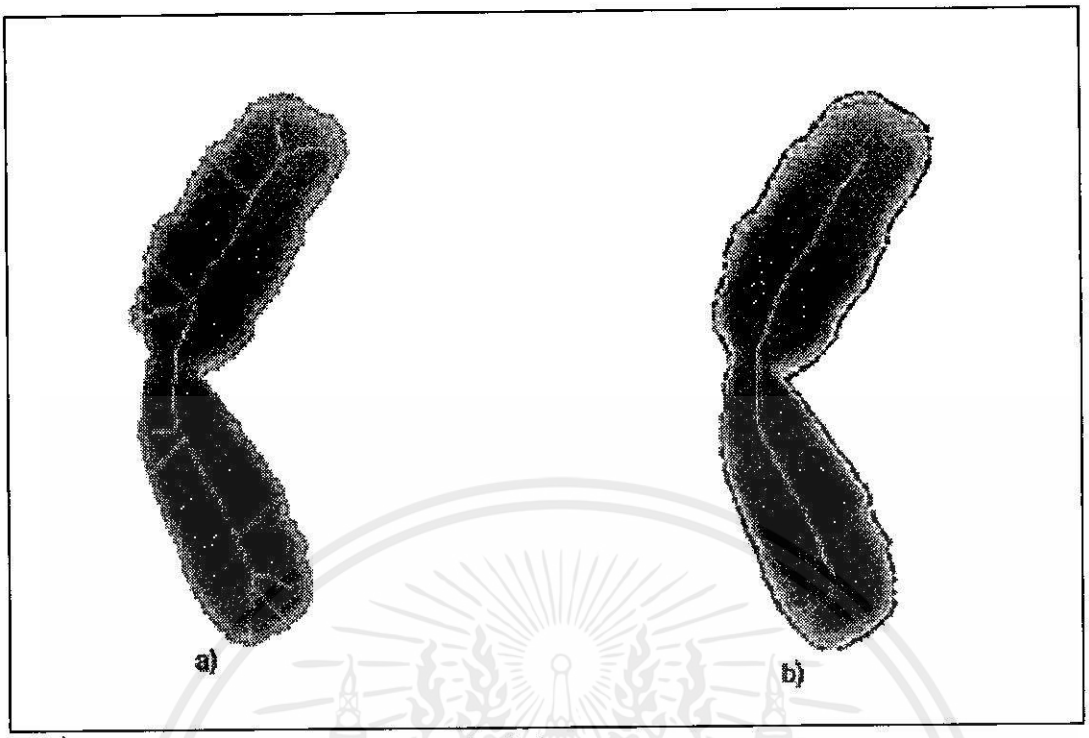
กำหนด N เป็นจำนวนจุดภาพทั้งหมด, P[N] เป็น array ของจุดภาพ, C เป็น Coefficient = 4

เมื่อ P[i] = 1 หมายถึงเป็นจุดภาพซึ่งอยู่ภายในวัตถุ

P[i] = 0 หมายถึงเป็นจุดภาพซึ่งอยู่ภายนอกวัตถุ

```
FOR i = 1 to N
        IF P[i] = 0 THEN
            n = จำนวนจุดประชิดซึ่งเป็นจุดภาพภายในวัตถุ
            IF n >= C THEN  P[i] = 2
        END
END
FOR i = 1 to N
        IF P[i] = 2 THEN P[i] = 1
END
```

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.7 ผลของการทำ Thinning ภาพโครโมโซม

a) ก่อนการทำไดเลชั่น

b) หลังจากการทำไดเลชั่น ด้วยค่าสัมประสิทธิ์ = 4

แม้ว่าปัญหาของเส้นกิ่งซึ่งเกิดจากรอยหยักของขอบภาพอาจแก้ไขได้โดยการทำไดเลชั่น แต่เส้นแกนที่ได้จากการทำภาพให้บาง นั้นบางครั้งก็ยังมีลักษณะที่ไม่ต่อเนื่องขาดเป็นช่วงๆ นอกจากนั้น Thinning algorithm ยังใช้เวลาในการคำนวณสูง (Expensive Computation Time) โดยมี Complexity function เท่ากับ $O\left(n^{1\frac{1}{2}}\right)$ (เมื่อ n = จำนวนจุดภาพ) ดังนั้นวิธีนี้จึงยังไม่เหมาะสมในการนำไปใช้งานจริง

3.3 การหาแกนด้วยวิธี Median Axis Transform

เนื่องจากการหาแกนของชิ้นโครโมโซมโดยวิธีการทำภาพให้บาง มีข้อด้อยอยู่หลายประการคือ ใช้เวลานาน และเส้นแกนที่ได้อาจไม่สมบูรณ์ ในการวิจัยนี้จึงได้ทดลองหาเส้นแกนของภาพชิ้นโครโมโซมด้วยวิธี Median Axis Transform [11] ซึ่งสามารถทำได้รวดเร็วและให้เส้นแกนที่มีความถูกต้องใกล้เคียงกัน โดยการทำงานจะแบ่งเป็น 2 ขั้นตอนคือ 1. การสร้าง Euclidean Distance Map (EDM), 2. การหาแกนของภาพจาก EDM

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.1 การสร้าง Euclidean Distance Map (EDM)

Euclidean Distance Map (EDM) เป็นวิธีการแทนค่าระยะห่างระหว่างจุดภาพกับขอบภาพด้วยค่าความสว่างที่แตกต่างกัน ซึ่งจุดภาพที่อยู่ภายนอกวัตถุ (วัตถุ ในที่นี้หมายถึง ส่วนชิ้นโครโมโซม) จะมีค่าความสว่างเป็น 0 ส่วนจุดภาพซึ่งอยู่ภายในและชิดกับขอบวัตถุ ซึ่งมีระยะทางสั้นที่สุดจะแทนด้วยค่าความสว่างน้อยๆ และเพิ่มค่าของความสว่างขึ้นเมื่อตำแหน่งของจุดอยู่ถัดเข้ามาภายในตัววัตถุ และจะมีค่าความสว่างมากที่สุดเมื่อจุดภาพอยู่บนแกนกลางของภาพวัตถุ

วิธีการคำนวณค่าความสว่างให้จุดภาพ

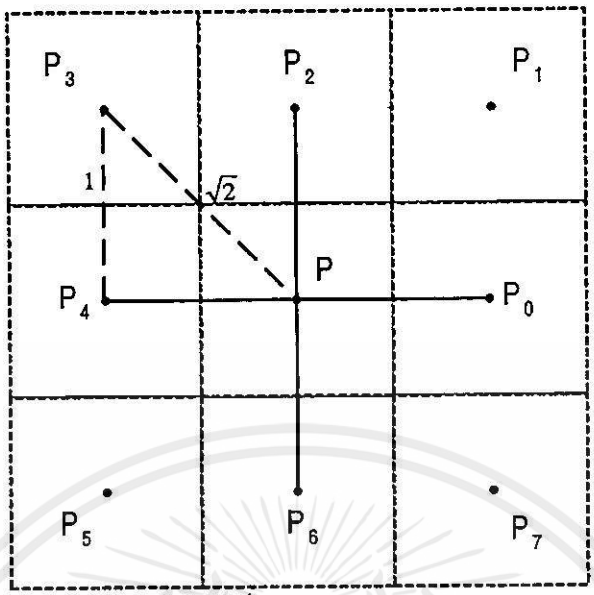
1. จุด p เป็นจุดภาพใด ๆ ที่พิจารณา วัดระยะทางระหว่างจุด p ไปยังจุดภาพที่อยู่ประชิดทั้งหมด 8 จุด คือ p_0 , p_1 , p_2 , p_3 , p_4 , p_5 , p_6 , p_7 ดังรูปที่ 3.8 กำหนดให้ระยะทางจากจุด p ไปยังจุดประชิด p_0 , p_2 , p_4 ,p_6ในแนวตั้งฉาก (90°) เท่ากับ 1 หน่วย ดังนั้นจุดภาพที่อยู่ประชิดในแนวเฉียง (45°) จุด p_1 , p_3 , p_5 ,p_7 จะมีระยะทางเท่ากับ $\sqrt{2}$ หน่วย เพื่อให้การคำนวณง่ายขึ้น จึงประมาณค่าสัดส่วนของ $\sqrt{2}$:1 ($\approx$ 1.414) ด้วย เลขจำนวนเต็ม 7:5 ($\approx$ 1.40) หมายถึง ระยะทางจากจุด p ไปยังจุดประชิดในแนวตั้งฉาก (90°) ต่อไปจะกำหนดให้เท่ากับ 5 และระยะทางจากจุด p ไปยังจุดประชิดในแนวตั้งเฉียง (45°) จะเท่ากับ 7

2. คำนวณค่าเปรียบเทียบจากจุด p ไปจุดประชิดทั้ง 8 จุด (จะได้ค่าเปรียบเทียบ 8 ค่า) ดังนี้

   ค่าเปรียบเทียบระหว่างจุด p ถึง p_i = ค่าความสว่างของจุด p_i + ระยะทางระหว่างจุด p ถึง p_i

3. ค่าความสว่างของจุด p จะเท่ากับ ค่าเปรียบเทียบที่น้อยที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.8 การวัดระยะทางระหว่างจุดภาพที่เป็นจุดประชิดกัน

p เป็นจุดภาพใด ๆ ที่พิจารณา

p_0 , p_1 , p_2 , p_3 , p_4 , p_5 , p_6 , p_7 เป็นจุดประชิดจุด p

ตัวอย่าง การคำนวณค่าเปรียบเทียบ (ดูรูปที่ 3.9 ประกอบ)

ให้ จุด M_1 , M_2 คือ จุดพิจารณาที่จะใช้เป็นตัวอย่างในการคำนวณ

<u>หาค่าความสว่างที่จุด M_1</u>

ค่าเปรียบเทียบจุด M_1 กับ p_0 = Max + 5 ≈ Max

ค่าเปรียบเทียบจุด M_1 กับ p_1 = 0 + 7 = 7

ค่าเปรียบเทียบจุด M_1 กับ p_2 = 0 + 5 = 5

ค่าเปรียบเทียบจุด M_1 กับ p_3 = 0 + 7 = 7

ค่าเปรียบเทียบจุด M_1 กับ p_4 = 0 + 5 = 5

ค่าเปรียบเทียบจุด M_1 กับ p_5 = Max + 7 ≈ Max

ค่าเปรียบเทียบจุด M_1 กับ p_6 = Max + 5 ≈ Max

ค่าเปรียบเทียบจุด M_1 กับ p_7 = Max + 7 ≈ Max

ค่าเปรียบเทียบของจุด M_1 น้อยที่สุดคือ 5 ดังนั้นจุด M_1 มีค่าความสว่าง = 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น และห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>หาค่าความสว่างที่จุด M_2</u>

ค่าเปรียบเทียบจุด M_2 กับ p_0 = Max + 5 ≈ Max

ค่าเปรียบเทียบจุด M_2 กับ p_1 = 5 + 7 = 12

ค่าเปรียบเทียบจุด M_2 กับ p_2 = 5 + 5 = 10

ค่าเปรียบเทียบจุด M_2 กับ p_3 = 0 + 7 = 7

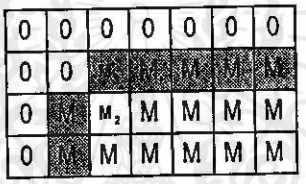
ค่าเปรียบเทียบจุด M_2 กับ p_4 = 5 + 5 = 10

ค่าเปรียบเทียบจุด M_2 กับ p_5 = 5 + 7 = 12

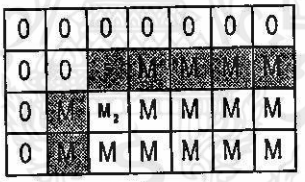
ค่าเปรียบเทียบจุด M_2 กับ p_6 = Max + 5 ≈ Max

ค่าเปรียบเทียบจุด M_2 กับ p_7 = Max + 7 ≈ Max

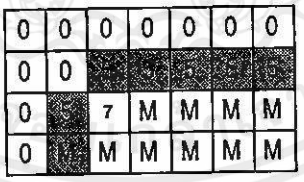
ค่าเปรียบเทียบของจุด M_2 น้อยที่สุดคือ 7 ดังนั้นจุด M_2 มีค่าความสว่าง = 7



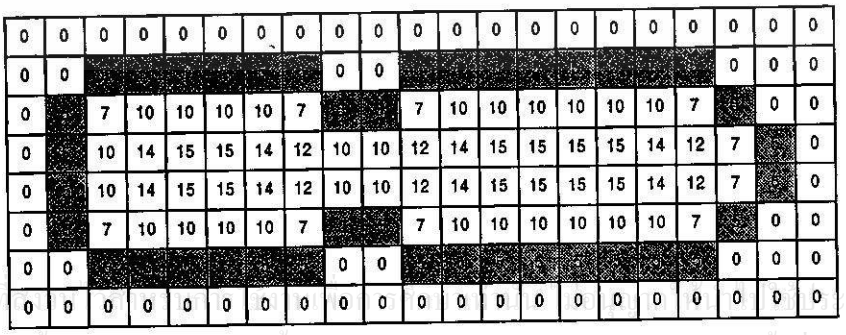
a.



b.



c.



d.

เอกสารนี้เป็นเอกสาร... โยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

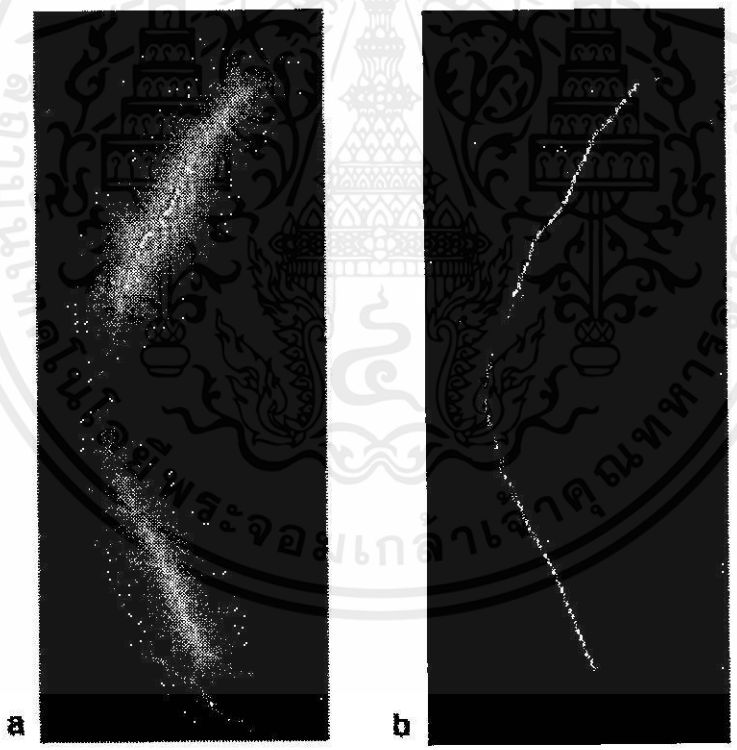
รูปที่ 3.9 ตัวอย่างภาพที่คำนวณ Euclidean Distance Map (EDM)

อัลกอริทึมการทำ Euclidean Distance Map (EDM)

ขั้นตอนที่ 1 กำหนดค่าความสว่างเป็น 0 ให้กับจุดภาพซึ่งอยู่นอกชิ้นวัตถุ (ชิ้นโครโมโซม) และกำหนดค่าเลขจำนวนเต็มบวกที่มากที่สุดให้กับจุดภาพซึ่งอยู่ภายในชิ้นวัตถุ

ขั้นตอนที่ 2 คำนวณค่าความสว่างให้จุดภาพที่เป็นจุดภาพภายในวัตถุตามวิธีการคำนวณค่าความสว่างให้จุดภาพที่กล่าวในข้างต้น ทุกจุดภาพ(ทำทีละจุดภาพ) ให้แต่ละจุดภาพมีความสว่างมากกว่าค่าความสว่างที่น้อยที่สุดของจุดภาพรอบ ๆ โดยกระทำจากด้านซ้ายไปขวา และจากด้านบนลงด้านล่าง

ขั้นตอนที่ 3 ทำซ้ำขั้นตอนที่ 2 โดยเปลี่ยนทิศทางจากด้านขวาไปซ้าย และจากด้านล่างขึ้นด้านบน



รูปที่ 3.10 แกนภาพจาก Median Axis Transform

a) Euclidean Distance Map
b) Median Axis Transform

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2 การหาแกนของภาพจาก EDM

หลักการในการหาแกนของภาพวัตถุจาก EDM ก็คือ การหาค่า Local Maximal ของค่าความสว่างของจุดภาพ (ซึ่งค่าความสว่างของแต่ละจุดภาพหาโดยวิธี Euclidean Distance Map ดังที่กล่าวในข้างต้น) โดยจุดภาพซึ่งอยู่บนแนวแกนของวัตถุ จะต้องเป็นจุดภาพซึ่งมีค่าความสว่างสูงกว่าหรือเท่ากับ จุดภาพซึ่งอยู่ประชิดโดยรอบทั้ง 8 ทิศทาง

ผลลัพธ์ที่ได้จากการทำ MAT จะได้เส้นแกนของภาพวัตถุ ซึ่งสามารถแสดงถึงทิศทางการวางตัวและการโค้งงอของวัตถุได้(รูปที่ 3.10b) ถึงแม้ว่าวิธีการนี้จะสามารถทำงานได้อย่างรวดเร็ว คือมี Complexity function เท่ากับ $O(n)$ (เมื่อ n = จำนวนจุดภาพ) แต่เนื่องจากเส้นแกนที่ได้ก็ยังมีบางส่วนขาดเป็นช่วงๆไม่ต่อเนื่อง ลักษณะจุดที่เรียงต่อกันบนเส้นแกนไม่เรียบและบางแห่งมีเส้นแตกแขนง ด้วยเหตุนี้จึงไม่เหมาะที่จะนำไปใช้เป็นแกนหลักของภาพโครโมโซมได้

3.4 การหาแกนด้วยวิธี Cubic Splines Interpolation

การทำ Cubic Splines Interpolation คือการคำนวณหาตำแหน่งของจุดซึ่งเป็นแกนภาพ ด้วยหลักการของ Curve Fitting โดยอาศัยสมการโพลีโนเมียลหลายสมการ โดยแต่ละสมการจะเรียงลำดับไปตามลักษณะความโค้งในแต่ละส่วนของชิ้นโครโมโซม สามารถแบ่งขั้นตอนการทำงานได้เป็น 4 ขั้นตอนคือ

1. ทำการหมุนภาพโครโมโซมให้อยู่ในแนวราบ
2. กำหนดจุดกึ่งกลางของความกว้างบนชิ้นโครโมโซม
3. สร้างสมการโพลีโนเมียล
4. คำนวณตำแหน่งของแกนโดยใช้สมการจากข้อ 3.

3.4.1 การหมุนภาพโครโมโซมให้อยู่ในแนวราบ

การหมุนภาพของโครโมโซมให้อยู่ในแนวราบขนานกับแกน X ทำได้โดยการหาค่ามุมของแนวชิ้นโครโมโซมกับแกน X ด้วยวิธี Linear Regression

$$y = ax + b \tag{3.2}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\sum x_i y_i = \sum x_i^2 a + \sum x_i b \tag{3.3}$$

$$a = \frac{n\sum x_i y_i - \sum x_i \sum y_i}{n\sum x_i^2 - \left(\sum x_i\right)^2} \quad (3.4)$$

โดยที่ x, y = ตำแหน่งของจุดในแนวแกน x และ y

a = ความชันของเส้นตรงซึ่งลากผ่านกลุ่มของจุดภาพ

b = จุดตัดของแนวเส้นตรงกับแกน y

i = ลำดับของข้อมูล

ค่ามุม ของเส้นตรงที่ลากผ่านกลุ่มของจุดภาพกับแนวแกน x สามารถหาได้ดังนี้

$$a = \tan(\theta)$$
$$\theta = \tan^{-1}(a) \quad (3.5)$$

เมื่อได้ค่า มุม θ ของแนวโครโมโซมกับแกน x แล้ว จากนั้นจะทำการหมุนภาพของชิ้นโครโมโซมให้อยู่ในแนวขนานกับแกน x โดยหมุนภาพกลับเป็นมุม $-\theta$ โดยใช้ความสัมพันธ์ดังนี้

$$x = x_0 + y \cdot \sin(-\theta) \quad (3.6)$$

$$y = y_0 + x \cdot \cos(-\theta) \quad (3.7)$$

โดยที่

x, y = ตำแหน่งของจุดภาพปลายทาง

x0, y0 = ตำแหน่งจุดภาพต้นทาง

θ = ขนาดของมุมที่ต้องการหมุน (หน่วยเป็นองศา)

การหมุนภาพแท้จริงก็คือการโยกย้ายตำแหน่งของจุดภาพ ซึ่งตำแหน่งของจุดภาพปลายทางจะได้จากการคำนวณ ตำแหน่งที่ได้จากการคำนวณซึ่งเป็นค่าของจำนวนจริง จะต้องมีการปัดเศษของตัวเลขทศนิยม เพื่อให้สามารถกำหนดเป็นตำแหน่งของจุดภาพปลายทาง ด้วยเหตุนี้จึงมีความคลาดเคลื่อนของจุดภาพปลายทางเกิดขึ้น เป็นผลทำให้ภาพที่ได้จากการหมุนจะมีรอยหยักบริเวณขอบภาพ และมีช่องว่างกระจายอยู่ทั่วไปบริเวณเนื้อภาพ แนวทางการแก้ปัญหาสามารถกระทำได้ 2 วิธี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีแรกคือ การทำ forward-mapping เมื่อจุดภาพต้นทางมีการคำนวณไปตกอยู่ในระหว่างจุดภาพปลายทาง 4 จุดภาพ จะทำการกระจายค่าความเข้มของจุดภาพต้นทางไปยังจุดภาพปลายทางทั้ง 4 จุด ตามสัดส่วนที่เหมาะสมซึ่งจะคำนวณโดยอาศัยการ Interpolation ดังจะกล่าวต่อไป

วิธีที่สองคือ การทำ backward-mapping วิธีนี้จะทำการคำนวณค่าความเข้มของจุดภาพปลายทางทุกๆ จุดภาพ โดยการคำนวณย้อนกลับไปยังตำแหน่งของจุดภาพต้นทาง ถ้าค่าที่คำนวณได้ตกอยู่ระหว่าง 4 จุดภาพ ก็จะทำการกำหนดค่าความเข้มของจุดภาพปลายทางจากการ Interpolation ค่าความเข้มของจุดภาพต้นทาง

การทำ backward-mapping นั้นจะให้คุณภาพของภาพที่ได้จากการหมุนมีความคมชัดดีกว่าการทำ forward-mapping แต่ก็มีความซับซ้อน และใช้เวลาในการคำนวณมากกว่า การ Interpolate ค่าความเข้มของจุดภาพที่ได้จากการหมุน จะใช้วิธี Bilinear Interpolation ซึ่งมีวิธีการดังนี้

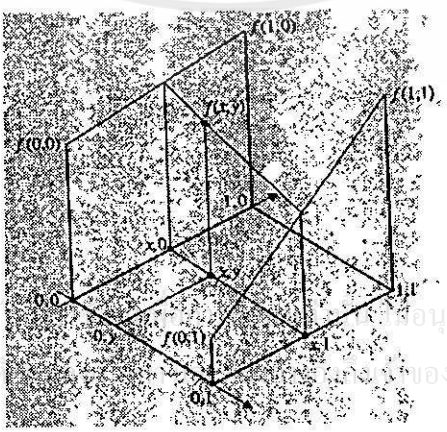
กำหนดให้ $f(x,y)$ เป็น ค่าความเข้มของจุดภาพ บนตำแหน่งซึ่งได้จากการคำนวณ ซึ่งตกอยู่ระหว่างตำแหน่งของจุดภาพทั้ง 4 จุด ซึ่งทราบความเข้มคือ $f(0,0)$, $f(1,0)$, $f(1,1)$ และ $f(0,1)$ (รูปที่ 3.11) จากนั้นจะสามารถคำนวณค่าของ f(x,0), f(x,1) และ ค่า f(x,y) ได้ดังความสัมพันธ์ต่อไปนี้

$$f(x,0) = f(0,0) + x\,[\,f(1,0) - f(0,0)\,] \tag{3.8}$$

$$f(x,1) = f(0,1) + x\,[\,f(1,1) - f(0,1)\,] \tag{3.9}$$

$$f(x,y) = f(x,0) + y\,[\,f(x,1) - f(x,0)\,] \tag{3.10}$$

ซึ่ง $f(x,y)$ ที่ได้คือค่าของความเข้มของจุดภาพที่ได้จาก Bilinear interpolation ตามต้องการ

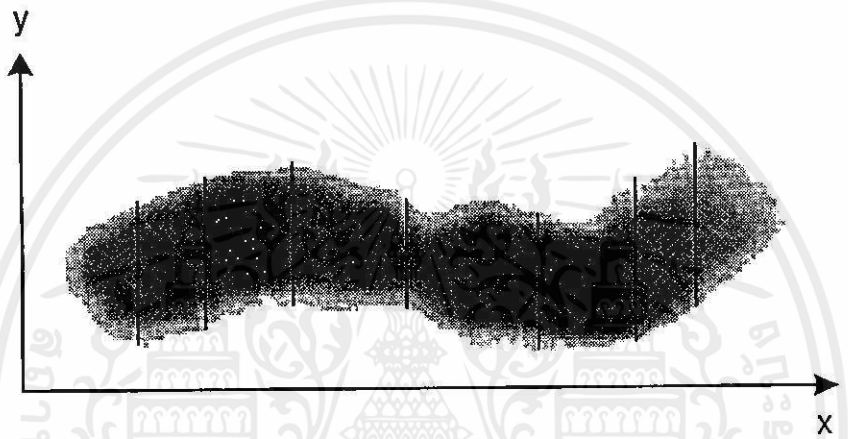


รูปที่ 3.11 Bilinear interpolation

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.2 กำหนดจุดกึ่งกลางของความกว้างบนชิ้นโครโมโซม

จุดกึ่งกลางตามแนวความกว้างจะวัดได้จาก จุดกึ่งกลางของเส้นตรงซึ่งลากตัดขวางลำตัวของโครโมโซม โดยตั้งฉากกับแนวความยาวของภาพ (รูปที่ 3.12) โคออดิเนตของจุดเหล่านี้จะใช้เป็นค่าเริ่มต้นสำหรับการสร้างสมการโพลีโนเมียล ในการอินเตอร์โพเลตเพื่อคำนวณแนวโค้งของแกนโครโมโซม จำนวนของจุดที่ใช้จะขึ้นอยู่กับความยาวของชิ้นโครโมโซม



รูปที่ 3.12 การหาจุดกึ่งกลางของความกว้างบนชิ้นโครโมโซม

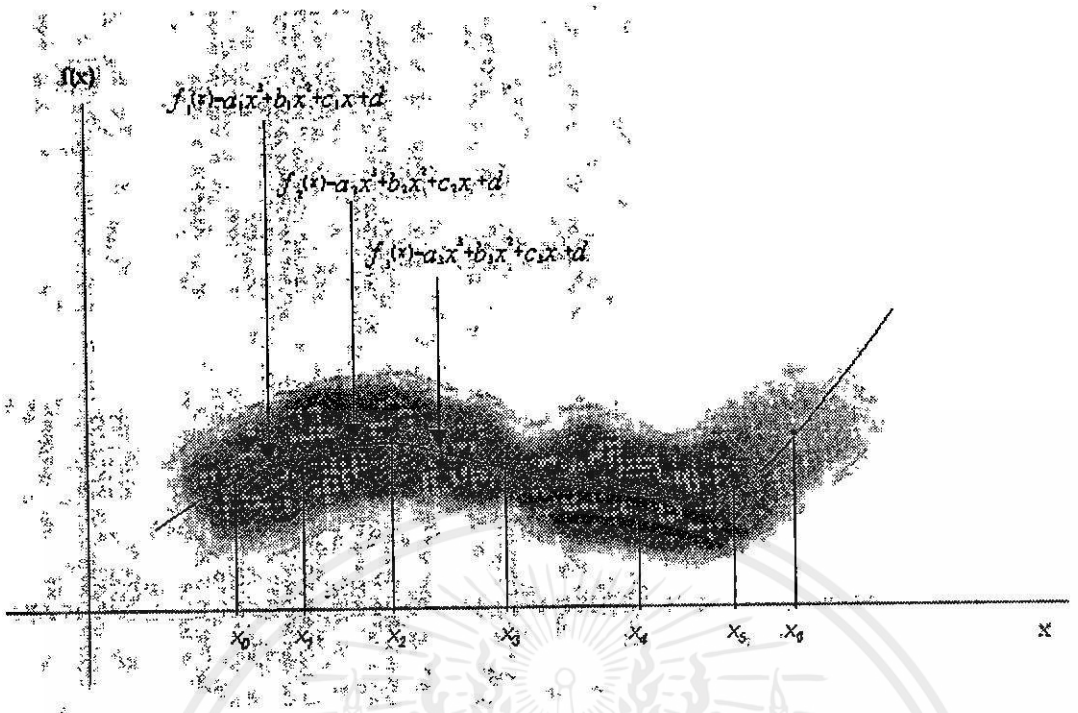
3.4.3 การสร้างสมการโพลีโนเมียล

Cubic Splines เป็นการใช้ third-order polynomial curve เชื่อมต่อข้อมูลแต่ละช่วงระหว่างจุดที่กำหนด(รูปที่ 3.13) โดยจะใช้สมการโพลิโนเมียล ซึ่งมีรูปแบบทั่วไป ดังนี้ [12]

$$f_i(x)=a_i x^3+b_i x^2+c_i x +d \qquad (3.11)$$

จากสมการ โพลิโนเมียล ข้างต้นนั้น จะสามารถคำนวณหา ความสัมพันธ์ของ Cubic Splines ได้หลายรูปแบบซึ่งจะไม่กล่าวถึงในที่นี้ แต่จะแสดงถึงวิธีการนำมาใช้ในงานวิจัยนี้เท่านั้น โดยรูปแบบของสมการเชิงอนุพันธ์ที่ใช้ในการทำ Cubic Splines มีดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.13 Cubic Splines

$$f_i(x)=\frac{f''(x_{i-1})}{6(x_i-x_{i-1})}(x_i-x)^3+\frac{f''(x_i)}{6(x_i-x_{i-1})}(x-x_{i-1})^3+\left[\frac{f(x_{i-1})}{x_i-x_{i-1}}-\frac{f''(x_{i-1})(x_i-x_{i-1})}{6}\right](x_i-x)+\left[\frac{f(x_i)}{x_i-x_{i-1}}-\frac{f''(x_i)(x_i-x_{i-1})}{6}\right](x_i-x_{i-1}) \quad (3.12)$$

โดยที่

x : คือตำแหน่งของจุดตัวอย่างบนแนวแกน X

f(x) : คือตำแหน่งของจุดตัวอย่างบนแนวแกน Y

i : คือลำดับของข้อมูล

จะสังเกตได้ว่าสมการข้างต้นมีค่า Unknowns เพียง 2 ค่าคือ ค่าอนุพันธ์ลำดับที่ 2 ที่จุดปลายของแต่ละช่วงความโค้ง ($f''(x_i)$ และ $f''(x_{i-1})$) ซึ่งค่า unknowns ทั้ง 2 ค่านี้สามารถคำนวณหาได้จากสมการต่อไปนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$(x_i - x_{i-1})f''(x_{i-1}) + 2(x_{i+1} - x_{i-1})f''(x_i) + (x_{i+1} - x_i)f''(x_{i+1}) = \frac{6}{(x_{i+1} - x_i)}\left[f(x_{i+1}) - f(x_i)\right] + \frac{6}{(x_i - x_{i-1})}\left[f(x_{i-1}) - f(x_i)\right] \quad (3.13)$$

จะเห็นได้ว่า ถ้ากำหนดจุดตัวอย่างทั้งหมด n จุด จะสามารถสร้างความสัมพันธ์ตามสมการ (3.13) ได้ n-2 สมการ โดยกำหนดค่าของ อนุพันธ์ลำดับที่ 2 ของจุดที่อยู่ตำแหน่งปลายทั้ง 2 ของกลุ่มข้อมูลให้มีค่าเป็น 0 ($f''(x_i) = 0$, เมื่อ i = 0 และ i = n) จากข้อกำหนดดังกล่าวจะสามารถสร้างระบบสมการ Tridiagonal System of Equations เพื่อคำนวณหาค่า Unknowns ของสมการทั้งหมดได้ดังนี้

Tridiagonal Systems Equations

$$\begin{bmatrix} f_1 & g_1 & & & & & \\ e_2 & f_2 & g_2 & & & & \\ & e_3 & f_3 & g_3 & & & \\ & & \ddots & \ddots & \ddots & & \\ & & & e_{n-1} & f_{n-1} & g_{n-1} & \\ & & & & e_n & f_n & \end{bmatrix} \begin{Bmatrix} x_1 \\ x_2 \\ x_3 \\ \vdots \\ x_{n-1} \\ x_n \end{Bmatrix} = \begin{Bmatrix} r_1 \\ r_2 \\ r_3 \\ \vdots \\ r_{n-1} \\ r_n \end{Bmatrix}$$

โดยแทนค่าจาก สมการ (3.13) ดังนี้

$$e_i = (x_i - x_{i-1}) \qquad f_i = 2(x_{i+1} - x_{i-1})$$

$$g_i = (x_{i+1} - x_1) \qquad x_i = f(x_i)$$

$$r_i = \frac{6}{(x_{i+1} - x_i)}\left[f(x_{i+1}) - f(x_i)\right] + \frac{6}{(x_i - x_{i-1})}\left[f(x_{i-1}) - f(x_i)\right]$$

จากนั้นใช้ Algorithm ต่อไปนี้ ในการแก้สมการเพื่อหาค่า *X*

FOR i = 2 to n

$e_i = e_i / f_{i-1}$

$f_i = f_i - e_i \cdot g_{i-1}$

END

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

FOR $i = 2$ to n

$r_i = r_i - e_i \cdot r_{i-1}$

END

$X_n = r_n / f_n$

FOR $i = n-1$ to 1 step -1

$X_i = (r_i - g_i \cdot x_{i+1}) / f_i$

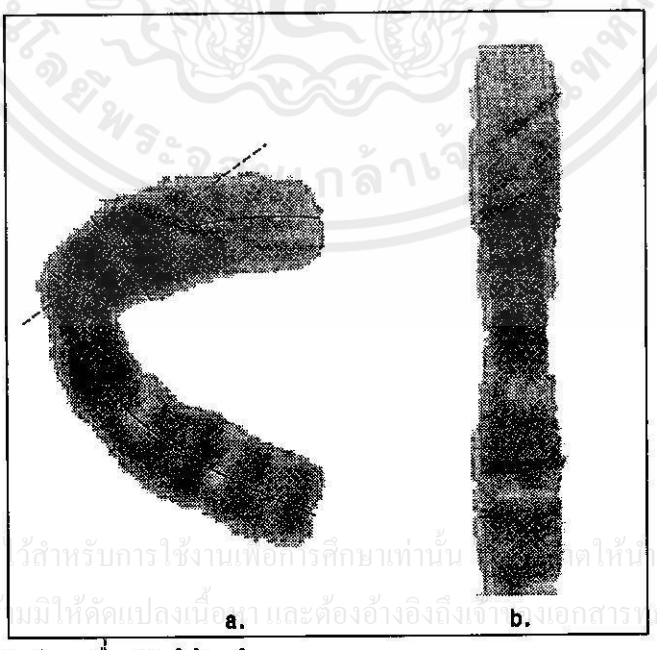
END

เมื่อได้ค่า $f''(x_i)$ ซึ่งจะนำไปใช้ในสมการ (3.12) เพื่อคำนวณหาค่า $f(x)$ ได้ตามต้องการ

3.5 การปรับภาพโครโมโซมที่โค้งงอให้อยู่ในแนวตรง

เทคนิคในการปรับภาพโครโมโซมให้อยู่ในแนวตรงสามารถทำได้โดยอาศัยแนวแกนของภาพ โดยมีวิธีการดังต่อไปนี้

1. คำนวณหาความชันของทุกๆ จุดตามแนวของแกน
2. คำนวณหาเส้นตั้งฉากกับความชันที่ได้ในข้อ 1.
3. ลากเส้นตรงตัดขวางตามแนวแกนของโครโมโซมโดยอาศัยเส้นตั้งฉากที่ได้จากข้อ 2.
4. ค่าของจุดภาพที่เส้นตรงลากผ่าน(จากข้อ 3.) นำมาเรียงประกอบกันให้อยู่ในแนวตรง
5. จะได้ภาพของโครโมโซมในแนวตรง



รูปที่ 3.14 ภาพโครโมโซมเมื่อปรับให้อยู่ในแนวตรง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

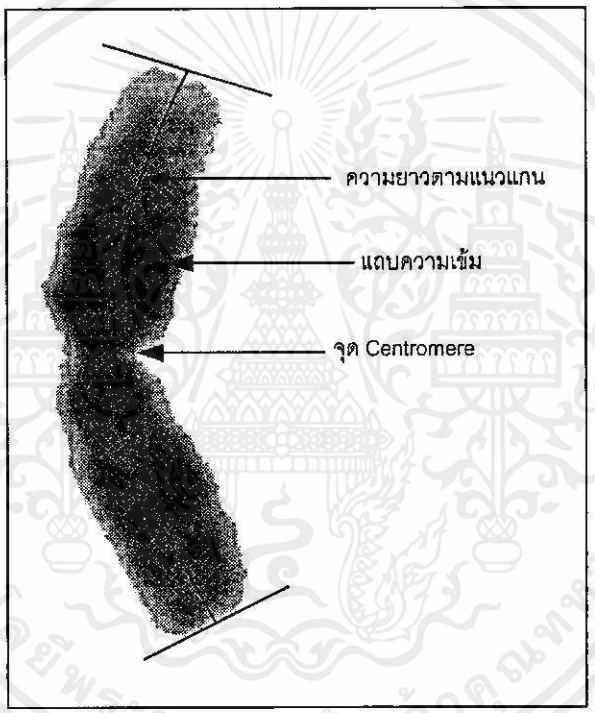
ด้วยวิธีการนี้ถึงแม้ว่าอาจสูญเสียข้อมูลจุดภาพบางส่วนไปคือบริเวณส่วนโค้งซึ่งเส้นตั้งฉากไม่สามารถลากผ่านได้ แต่ก็สามารถสร้างภาพโครโมโซมในแนวตรง โดยยังคงรายละเอียดที่สำคัญส่วนใหญ่ไว้ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
การหาลักษณะเฉพาะและจำแนกชนิดของโครโมโซม

ลักษณะเฉพาะ(Chromosome Feature) ซึ่งจะนำมาใช้ในการจำแนกชนิดของโครโมโซม ได้แก่

1. ความยาวของชิ้นโครโมโซมตามแนวแกนหลัก (Chromosome Length)
2. ตำแหน่งของจุดเซ็นโตรเมีย (Centromere Position)
3. การกระจายของแถบความเข้มบนชิ้นโครโมโซม (Density Distribution Profile)



รูปที่ 4.1 ลักษณะเฉพาะของโครโมโซม (Chromosome Feature)

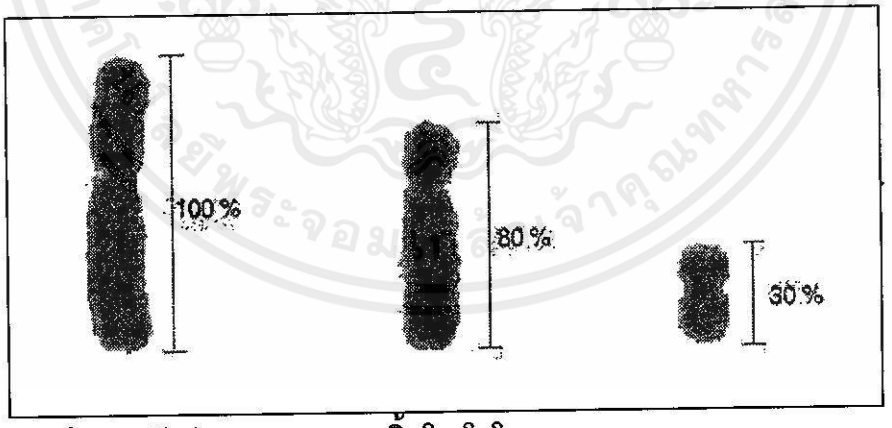
การจำแนกชนิดของโครโมโซมนั้น สามารถทำได้โดยหาค่าของลักษณะเฉพาะทั้งสามของโครโมโซมแต่ละชิ้น แล้วนำไปเปรียบเทียบกับลักษณะเฉพาะมาตรฐานของชุดโครโมโซม ซึ่งมีการจำแนกประเภทไว้แล้วโดยแพทย์หรือผู้เชี่ยวชาญทางด้านพันธุกรรม (Medical Genetics) ค่าลักษณะเฉพาะมาตรฐานเหล่านี้จะคำนวณจากลักษณะเฉพาะของโครโมโซมมนุษย์ตั้งแต่คู่ที่ 1-23 โดยโครโมโซมคู่ที่ 23 ซึ่งเป็นโครโมโซมเพศ (Sex Chromosome) จะประกอบด้วยโครโมโซม X และโครโมโซม Y รวม 1 ชุดโครโมโซมจะมีโครโมโซมทั้งหมด 24 ชนิด ซึ่งจะได้ค่ามาตรฐานของลักษณะเฉพาะทั้งหมด 24 ค่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในขั้นตอนการจำแนกโครโมโซม จะนำข้อมูลลักษณะเฉพาะของโครโมโซมตัวอย่างที่ต้องการจำแนก มาเปรียบเทียบกับโครโมโซมมาตรฐานทั้ง 24 ชนิด ผลของการเปรียบเทียบจะได้ค่าความแตกต่างทั้งหมด 24 ค่า ต่อ 1 โครโมโซมตัวอย่าง โดยค่าแสดงความแตกต่างที่น้อยที่สุดจะเป็นตัวตัดสินว่าโครโมโซมตัวอย่างที่พิจารณานั้นเป็นโครโมโซมชนิดใด

4.1 การกำหนดสัดส่วนความยาวของโครโมโซม

ความยาวของชิ้นโครโมโซมจะทำการวัดโดยการนับจำนวนจุดภาพตามแนวแกนของชิ้นโครโมโซมที่อาจโค้งงอตามรูปร่างของโครโมโซม ซึ่งความยาวตามแนวแกนของชิ้นโครโมโซมที่วัดได้นั้น ไม่สามารถนำมาเปรียบเทียบกันได้โดยตรงเนื่องจากค่าความยาวซึ่งได้จากการนับจำนวนจุดภาพจะขึ้นอยู่กับความละเอียดของภาพที่สแกนได้ ซึ่งภาพตัวอย่างโครโมโซมแต่ละภาพอาจมีความละเอียดของภาพไม่เท่ากัน วิธีแก้ไขก็คือ การเปรียบเทียบโดยใช้สัดส่วนของความยาวในแต่ละภาพแทน โดยนำความยาวของโครโมโซมทุกชิ้นในภาพ มาเปรียบเทียบกันและกำหนดสัดส่วนกล่าวคือโครโมโซมชิ้นที่ยาวที่สุดให้มีค่าสัดส่วนเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนโครโมโซมชิ้นที่ยาวลำดับรองลงมาก็ให้เทียบสัดส่วนความยาวกับชิ้นแรก และให้มีเปอร์เซ็นต์ของความยาวลดลงมาตามลำดับ (รูปที่ 4.2)



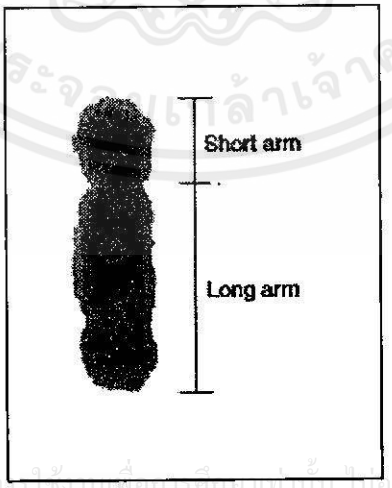
รูปที่ 4.2 การกำหนดสัดส่วนความยาวของชิ้นโครโมโซม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การหาระยะของจุดเซ็นโตรเมีย

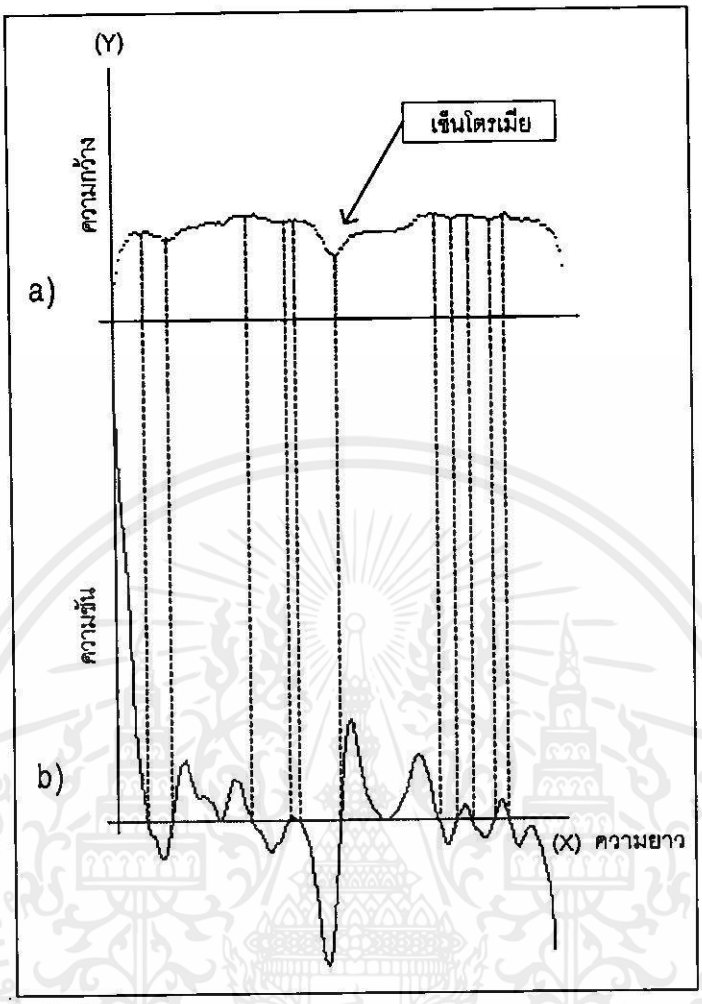
จุดเซ็นโตรเมีย คือตำแหน่งที่ชิ้นโครโมโซมมีความกว้างน้อยที่สุดหรือบริเวณส่วนที่แคบที่สุดของชิ้นโครโมโซม ซึ่งจะเป็นจุดที่แบ่งชิ้นโครโมโซมออกเป็น 2 ส่วน ได้แก่ โครโมโซมส่วนสั้น (Short Arm) และโครโมโซมส่วนยาว(Long Arm) ในการจัดคาริโอไทป์ของโครโมโซมนั้นจะวางตำแหน่งของโครโมโซมส่วนสั้นอยู่ด้านบนและโครโมโซมส่วนยาวอยู่ด้านล่าง การจำแนกชนิดของโครโมโซมสามารถใช้สัดส่วนของระยะจุดเซ็นโตรเมียเป็นตัวเปรียบเทียบได้ โดยคำนวณจากความยาวของโครโมโซมส่วนสั้น ต่อความยาวของโครโมโซมส่วนยาว(short arm / long arm) กรณีโครโมโซมบางคู่ที่ไม่มีจุดเซ็นโตรเมีย จะถือว่ามีสัดส่วนของระยะจุดเซ็นโตรเมียเป็นศูนย์

การหาระยะของจุดเซ็นโตรเมียอาจทำได้จากการวัดความกว้างของชิ้นโครโมโซมในแนวตั้งฉากกับเส้นแกนโดยวัดตลอดแนวความยาวของแกน จะได้ตำแหน่งที่มีความกว้างน้อยที่สุดคือตำแหน่งของจุดเซ็นโตรเมีย แต่วิธีการนี้จะเกิดปัญหาคือบริเวณปลายทั้ง 2 ด้านของโครโมโซมซึ่งจะวัดความกว้างได้น้อยกว่าจุดเซ็นโตรเมีย ซึ่งจะทำให้การกำหนดระยะจุดเซ็นโตรเมียผิดพลาดได้ การแก้ปัญหานี้จะใช้ algorithm ในการหาจุดเซ็นโตรเมียจากความสัมพันธ์ระหว่าง ความยาว (แกน X) และความกว้างของโครโมโซม(แกน Y) (รูปที่ 4.4a) โดยการหาความชัน ของทุกๆ จุดตามแนวแกน X และนำมาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความยาว (แกน X) กับความชัน (แกน Y) (รูปที่ 4.4b) ซึ่งจะหาจุดเซ็นโตรเมียได้จากตำแหน่งซึ่งความชั้นเท่ากับ 0 และมีความกว้างน้อยที่สุด



รูปที่ 4.3 สัดส่วนของระยะจุดเซ็นโตรเมีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 การหาจุดเซ็นโตรเมีย

a) ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวกับความกว้างของโครโมโซม

b) ความสัมพันธ์ระหว่างความยาว(แกน x) กับความชัน(แกน y)

ขั้นตอนการหาจุดเซ็นโตรเมีย มีดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 สร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความยาว(แกน x) กับความกว้าง(แกน y) ของโครโมโซม (รูปที่ 4.4a)

ขั้นตอนที่ 2 คำนวณหาความชันทุกจุดจากกราฟที่ได้ในขั้นตอนที่ (1) โดยคำนวณจากการทดถอยแบบเส้นตรง (Linear Regression)

ขั้นตอนที่ 3 สร้างกราฟแสดงค่าความสัมพันธ์ระหว่างความยาว(แกน x) กับความชัน(แกน y) จากข้อมูลขั้นตอนที่ (2) (รูปที่ 4.4b)

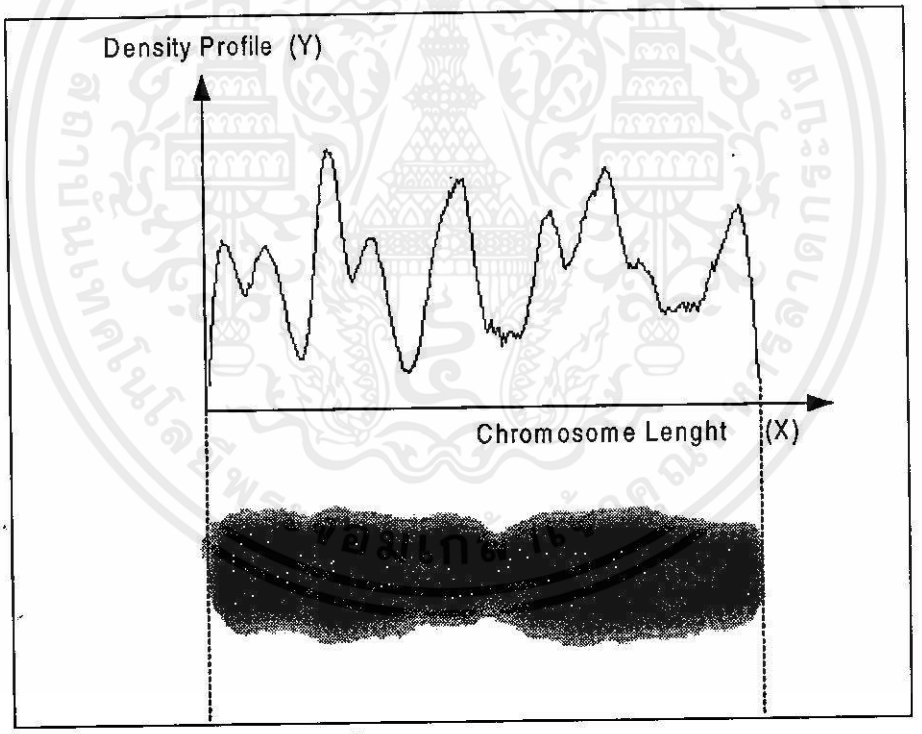
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนที่ 4 จากกราฟในขั้นตอนที่ (3) พิจารณาเฉพาะจุดซึ่ง ค่า y = 0 (จุดซึ่งเส้นกร๋าฟตัดแกน x) หาค่าความกว้างของโครโมโซมซึ่งน้อยที่สุดที่ระยะของจุดดังกล่าว

ขั้นตอนที่ 5 ตำแหน่งที่โครโมโซมมีความกว้างน้อยที่สุดในขั้นตอนที่ (4) คือ ระยะของจุดเซ็นโตรเมีย

4.3 การหารูปแบบการกระจายของแถบความเข้มบนชิ้นโครโมโซม

การกระจายของแถบความเข้ม (Density Profiles) สามารถหาได้จากค่าความเข้มเฉลี่ยของจุดภาพ ซึ่งอยู่ในแนวตั้งฉากกับแกนของโครโมโซม จากนั้นนำมาสร้างกราฟ Density Profiles ของโครโมโซมแต่ละชิ้น ซึ่งเป็นกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความยาวของชิ้นโครโมโซมและความเข้มของชิ้นโครโมโซม



รูปที่ 4.5 Density Profiles ของโครโมโซม

ความเข้มของจุดภาพในแต่ละตำแหน่งบนชิ้นโครโมโซม ที่เกิดจากการย้อมสีในขั้นตอนการเตรียมเซลจากห้องปฏิบัติการนั้น การเตรียมเซลแต่ละครั้งอาจได้ชิ้นของโครโมโซมซึ่งย้อมติดสีมีความเข้มไม่เท่ากันแม้จะเป็นโครโมโซมชนิดเดียวกันก็ตาม ซึ่งอาจเกิดจากปัจจัยภายนอกหลายประการได้แก่ ระยะเวลาในการย้อมแต่ละครั้ง, คุณภาพของสีที่ใช้ และโดยเฉพาะอย่างยิ่งทักษะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้ง

ความชำนาญของผู้เตรียมเซลเอง นอกจากนี้ความเข้มของจุดภาพอาจมีการแปรเปลี่ยนไป ได้จากขั้นตอนการปรับแสงในการถ่ายภาพ และการสแกนภาพอีกด้วย ดังนั้นภาพของโครโมโซมแต่ละชุดแม้จะเป็นโครโมโซมชนิดเดียวกันแต่ก็อาจวัดความเข้มของจุดภาพได้ไม่เท่ากัน แต่ลักษณะสำคัญที่คล้ายกันในโครโมโซมชนิดเดียวกันนั้นก็คือ การกระจายของแถบความเข้มบนชิ้นโครโมโซม ซึ่งเกิดจากธรรมชาติการย้อมติดสีของโครโมโซมแต่ละชนิดนั่นเอง ซึ่งลักษณะเฉพาะนี้ สามารถนำมาใช้ในการจำแนกชนิดของโครโมโซมได้ การเปรียบเทียบการกระจายของแถบความเข้มนั้น จำเป็นต้องทำการปรับค่าของความเข้มของจุดภาพซึ่งมีค่าของเกรสเกล 256 ระดับ ให้อยู่ในสัดส่วนเดียวกันทั้งภาพตามขั้นตอน ดังนี้

1. หาค่าความเข้มต่ำสุดและสูงสุดของจุดภาพ
2. ทำการคำนวณเพื่อ Normalize ค่าความเข้มของจุดภาพทุกๆ จุด โดยให้จุดภาพซึ่งมีค่าความเข้มสูงสุด มีค่าเท่ากับ 255 โดยมีการคำนวณดังนี้

$$D = D_0 \times 255 / D_{max}$$

โดยที่ D = ความเข้มของจุดภาพหลังการ Normalize

D_0 = ความเข้มของจุดภาพก่อนการ Normalize

D_{max} = ความเข้มสูงสุดของจุดภาพ

4.4 การคำนวณค่าความแตกต่างของโครโมโซมตัวอย่างกับโครโมโซมมาตรฐาน

ค่าความแตกต่างของโครโมโซมแต่ละชิ้น ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานนั้นประกอบด้วยค่าผลต่างของ 3 ส่วนคือ สัดส่วนความยาวโครโมโซม, สัดส่วนของระยะจุดเซ็นโตรเมีย และค่าความแตกต่างการกระจายของแถบความเข้มบนโครโมโซม

สัดส่วนความยาวโครโมโซมซึ่งคำนวณเป็นค่าเปอร์เซ็นต์นั้นจะมีค่าอยู่ในช่วง 0 ถึง 100 ซึ่งในการเปรียบเทียบเพื่อให้มีนัยสำคัญเพิ่มขึ้น จำเป็นต้องเพิ่มน้ำหนักที่เหมาะสมให้กับค่าที่คำนวณได้ดังนี้

$$\text{ผลต่างของสัดส่วนความยาว} = (L - L_S)^2 \times W_L$$

L = ความยาวของโครโมโซมตัวอย่าง

L_S = ความยาวของโครโมโซมมาตรฐาน

W_L = ค่าน้ำหนัก = 2.55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัดส่วนของระยะจุดเซ็นโตรเมียซึ่งหาได้จาก ความยาวของโครโมโซมส่วนสั้น (short arm) หารด้วยความยาวของโครโมโซมส่วนยาว(long arm) จะมีค่าอยู่ในช่วง 0 ถึง 1 การเพิ่มค่านำหนักที่เหมาะสมให้กับผลต่างของค่าที่คำนวณได้นี้จึงมีความจำเป็นเช่นกัน ทั้งนี้เพื่อเป็นการเพิ่มนัยสำคัญให้กับค่าซึ่งจะนำไปคำนวณเปรียบเทียบในการจำแนกชนิด ดังนี้

ผลต่างของสัดส่วนระยะจุดเซ็นโตรเมีย = $(C - C_S)^2 \times W_C$

C = สัดส่วนระยะจุดเซ็นโตรเมียของโครโมโซมตัวอย่าง

C_S = สัดส่วนระยะจุดเซ็นโตรเมียของโครโมโซมมาตรฐาน

W_C = ค่าน้ำหนัก = 255

การกระจายของแถบความเข้ม หาได้จากการสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความยาว(แกน X) กับความเข้มเฉลี่ย(แกน Y) ของโครโมโซม ซึ่งความเข้มจะมีค่าอยู่ในช่วง 0 ถึง 255 การเปรียบเทียบลักษณะการกระจายนั้น จะต้องทำการปรับสัดส่วนของความยาวโครโมโซมแต่ละชิ้นให้มีขนาดเท่ากันก่อน ทั้งนี้เพื่อให้เกิดความถูกต้องในการเปรียบเทียบ ซึ่งการเปรียบเทียบการกระจายความเข้มนี้จะคำนวณจากผลต่างของลักษณะการกระจายของเส้นกราฟที่ได้จากโครโมโซมตัวอย่าง กับการกระจายเส้นกราฟจากโครโมโซมมาตรฐาน โดยการนำเส้นกราฟซ้อนทับลงบนแกนเดียวกัน(รูปที่ 4.6) และวัดค่าความแตกต่างระหว่างเส้นกราฟทุกๆจุด ตลอดแนวความยาว จากนั้นคำนวณหาค่าความแตกต่างรวมโดยใช้วิธีหาค่าผลต่างกำลังสอง (Mean Square Error) ดังนี้

$$E = \frac{\sum_{i=1}^{n} (y_{1_i} - y_{2_i})^2}{n}$$

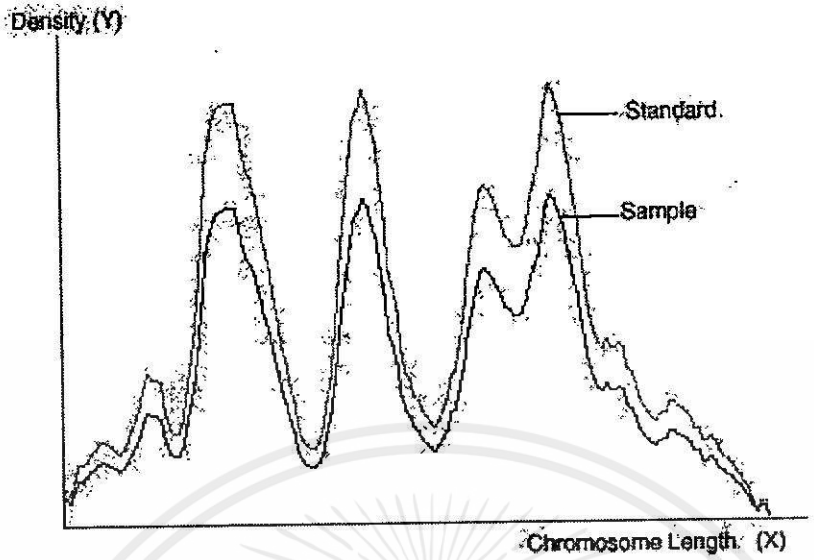
E = ผลต่างของการกระจายความเข้มรวม

y1 = ความเข้มเฉลี่ยของจุดภาพบนกราฟเส้นแรก

y2 = ความเข้มของจุดภาพบนกราฟเส้นที่สอง

n = ความยาวของแกน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 การเปรียบเทียบการกระจายของแถบความเข้มบนชิ้นโครโมโซม

ค่าความแตกต่างของโครโมโซมจะคำนวณได้จากผลรวมของค่าความแตกต่างของลักษณะทั้ง 3 ดังที่กล่าวมาแล้ว ดังนี้

ค่าความแตกต่างของโครโมโซม = ผลต่างของสัดส่วนระยะจุดเซ็นโตรเมีย +
ผลต่างของสัดส่วนความยาว +
ผลต่างของการกระจายความเข้มรวม

หรือ

$$\text{ค่าความแตกต่างของโครโมโซม} = [(L - L_S)^2 \times W_L] + [(C - C_S)^2 \times W_C] + E$$

L = สัดส่วนความยาวของโครโมโซม

L_S = สัดส่วนความยาวของโครโมโซมมาตรฐาน

C = สัดส่วนระยะของจุดของโครโมโซม

C_S = สัดส่วนระยะของจุดเซ็นโตรเมียของโครโมโซมมาตรฐาน

W_L = น้ำหนัก(Weight) ซึ่งให้กับสัดส่วนของความยาว = 2.55

W_C = น้ำหนัก(Weight) ซึ่งให้กับสัดส่วนของระยะจุดเซ็นโตรเมีย = 255

E = ผลต่างของการกระจายของแถบความเข้มรวม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับโครโมโซมตัวอย่าง 1 โครโมโซม ค่าความแตกต่างระหว่างโครโมโซมตัวอย่างกับโครโมโซมมาตรฐานจะถูกคำนวณได้ 24 ค่าซึ่งค่าที่น้อยที่สุดที่ได้จากการคำนวณ จะเป็นตัวกำหนดว่าโครโมโซมที่พิจารณาน่าจะมีความคลายคลึงกับโครโมโซมมาตรฐานโครโมโซมใดมากที่สุด ในการจัดคาริโอไทป์ของมนุษย์นั้น จะต้องเปรียบเทียบโครโมโซมตัวอย่างทั้งหมดถึง 46 โครโมโซม ซึ่งต้องแยกออกเป็น 24 ชนิด ถ้าโครโมโซมตัวอย่างหลายโครโมโซมมีการจำแนกได้เป็นโครโมโซมชนิดเดียวกัน ก็จะพิจารณาเลือกเฉพาะโครโมโซมที่มีค่าผลต่างน้อยที่สุดเพียง 2 โครโมโซมเท่านั้น ส่วนที่เหลือนอกจากนั้นจะถือว่าเป็นโครโมโซมซึ่งไม่สามารถจำแนกได้ด้วยวิธีนี้ได้ ซึ่งอาจต้องนำไปจำแนกโดยการวิเคราะห์จากแพทย์ผู้เชี่ยวชาญในขั้นต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
การทดลองและผลการทดลอง

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการพัฒนาโปรแกรมคอมพิวเตอร์โดยใช้เทคนิคและอัลกอริทึ่มต่างๆ ดังที่อธิบายในบทที่ 2 ถึงบทที่ 5 พัฒนาโปรแกรมด้วยภาษา C++ โดยใช้ Microsoft Visual C++ 6.0 บนระบบปฏิบัติการ Windows NT 4.0 เครื่องคอมพิวเตอร์ที่ใช้พัฒนาและทดสอบโปรแกรมเป็นเครื่อง PC รุ่น Pentium Pro 200 MHz มีหน่วยความจำหลัก 128 MB

ภาพโครโมโซมที่ใช้ในการทดลองเป็นโครโมโซมในระยะเมตาเฟส ที่ได้จากเซลเม็ดเลือดขาว (Lymphocytes) ของมนุษย์ โดยถ่ายภาพจากกล้องจุลทัศน์และจัดเก็บในรูปแบบ เกรสเกล บิตเม็ป (.BMP) มีความละเอียดของจุดภาพ 1024 x 1024 จุด ชุดของภาพโครโมโซมทั้งหมดที่ใช้เป็นชุดโครโมโซมตัวอย่างในการการทดลอง และที่ใช้เป็นชุดโครโมโซมมาตรฐานนั้น ได้ทำการจำแนกประเภทไว้ก่อนอย่างถูกต้องโดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญจากหน่วยมนุษย์พันธุศาสตร์ ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ รพ.รามาธิบดี เพื่อนำมาเปรียบเทียบกับผลที่ได้จากการทดลองและทำการคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์ความถูกต้อง

ลำดับของการทดลองเริ่มตั้งแต่ การทดสอบและพัฒนาอัลกอริทึมต่างๆ จนสามารถนำมาใช้ในการจำแนกชนิดของภาพโครโมโซมได้นั้น โดยได้นำเสนอผลการทดลองโดยเรียงตามลำดับตามขั้นตอนการทำงานของโปรแกรม ดังต่อไปนี้

1) การแยกภาพโครโมโซมออกจากพื้นหลัง
2) การปรับปรุงขอบภาพชิ้นโครโมโซม
3) การหาแกนของภาพด้วยวิธีทำวัตถุให้บาง (Thinning)
4) การหาแกนของภาพด้วยวิธี Median Axis Tranform (MAT)
5) การหาแกนของภาพด้วยวิธี Cubic Spline Interpolation
6) การปรับภาพโครงรูปของโครโมโซมให้อยู่ในแนวตรง
7) การหาลักษณะเฉพาะของชุดโครโมโซมมาตรฐาน
8) การจำแนกชนิดของโครโมโซม

5.1 ผลการแยกภาพโครโมโซมออกจากพื้นหลัง

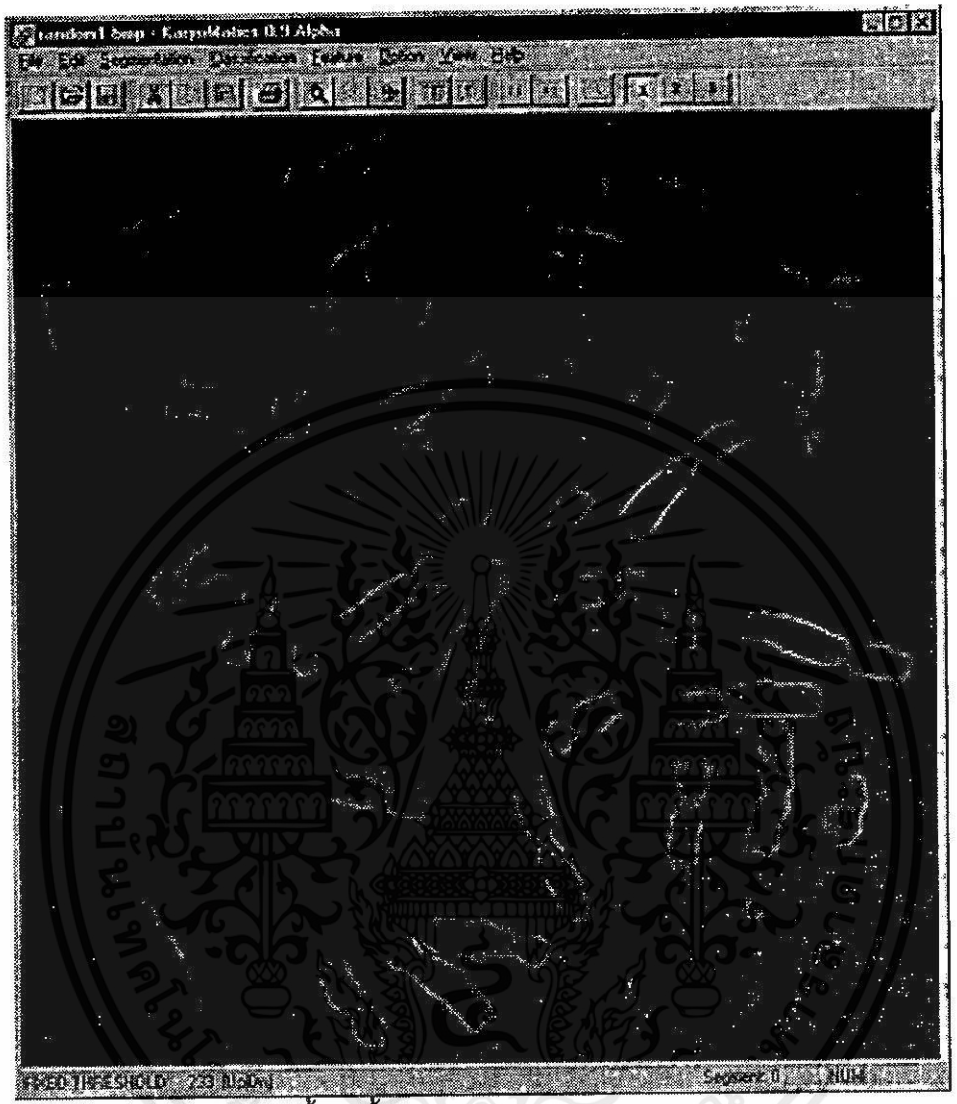
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น

จากการหาค่าเทรดโฮลด้วยวิธี Local Intensity Gradient Method และแยกส่วนของวัตถุออกจากพื้น ด้วยวิธี Single และ Double Threshold จะได้ผลดังภาพ (รูปที่ 5.1 - 5.6)

รูปที่ 5.1 ภาพเกรสเกลของโครโมโซม

ภาพโครโมโซมที่นำมาใช้ในการวิจัยนี้ จะเป็นชุดของภาพซึ่งโครโมโซมแต่ละชิ้นไม่มีการซ้อนทับกัน แต่โครโมโซมบางชิ้นอาจอยู่ชิดกันมาก จนไม่สามารถแยกออกจากกันด้วยค่าเทรดโฮล ก็จำเป็นต้องใช้วิธีลากเส้นแบ่ง ให้โครโมโซมแต่ละชิ้นนั้นอยู่เป็นอิสระจากกันก่อน จากนั้นจึงทำการ แยกแต่ละส่วนออกจากพื้นหลัง ในขั้นต่อไป

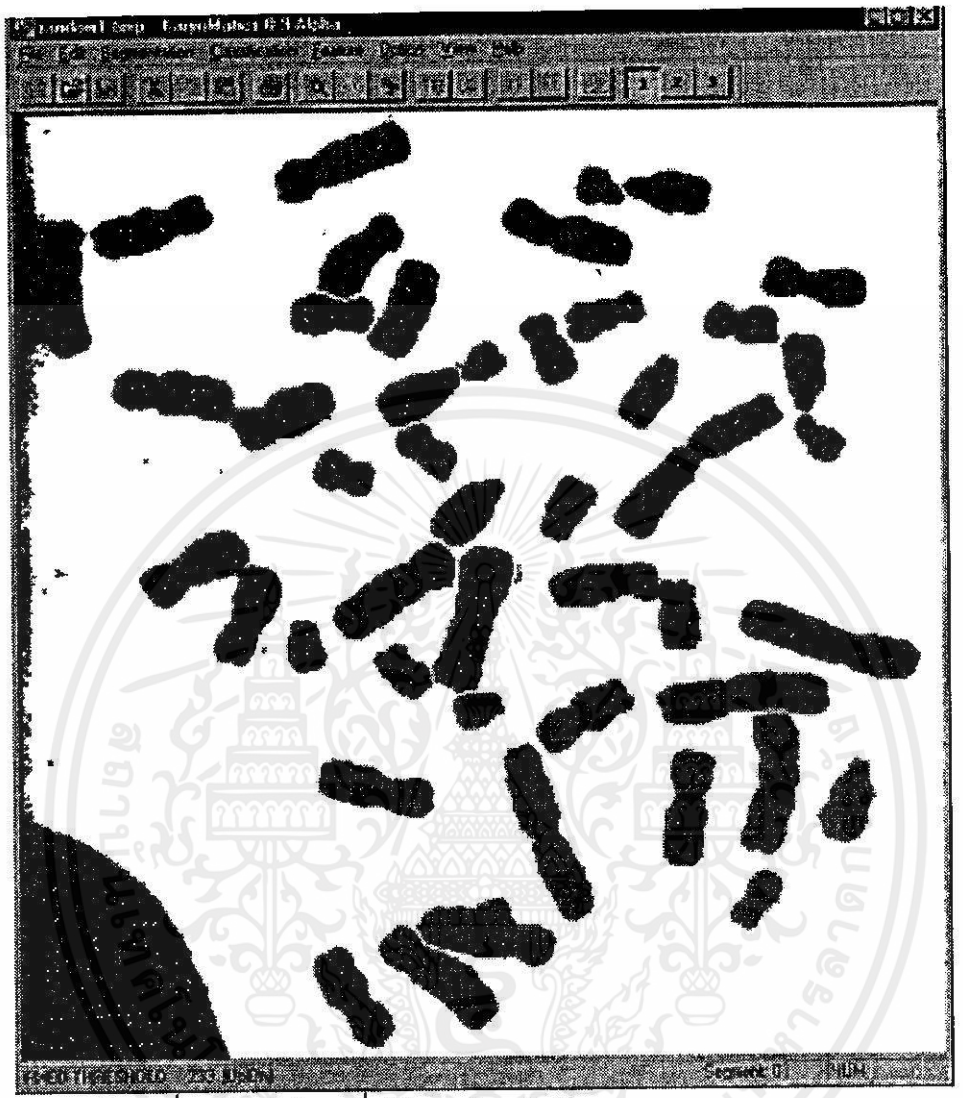
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 5.2 ภาพแสดงค่าอินเทนซิตี้เกรเดี้ยนของภาพโครโมโซม

จากภาพ เป็นการแทนค่าแต่ละจุดภาพด้วยค่า อินเทนซิตี้ เกรเดี้ยนต์ (Intensity Gradient) ซึ่งบริเวณที่มีค่า G สูงจะมีค่าความสว่างของจุดภาพสูงกว่าบริเวณที่มีค่า G ต่ำ จะเห็นได้ว่าบริเวณขอบของชิ้นโครโมโซม จะมีค่า G สูงกว่าบริเวณอื่นๆ ดังนั้นค่า Threshold จะสามารถคำนวณได้จากค่าความสว่างบริเวณขอบภาพหรือบริเวณซึ่งมีค่า G สูงๆ นั่นเอง (อธิบายในหัวข้อ 2.1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 5.3 ภาพไบนารี่ของโครโมโซมเมื่อใช้เทรสโฮลค่าเดียว

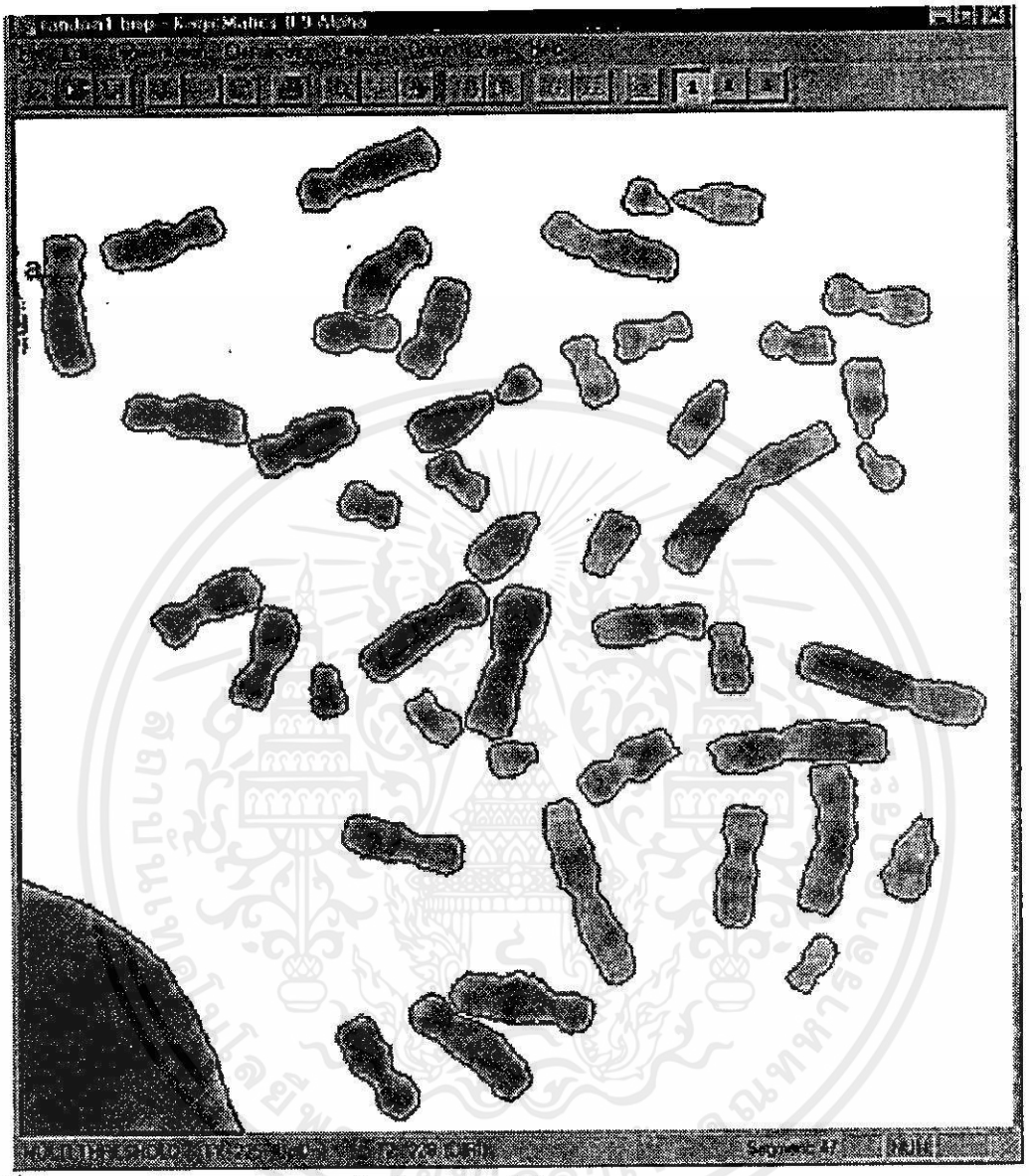
เทรสโฮลที่คำนวณได้จะเป็นค่าที่ใช้ตัดสินว่า จุดภาพใดเป็นเนื้อของโครโมโซมและจุดภาพใดเป็นพื้นหลังหรืออยู่นอกชิ้นโครโมโซม จากนั้นแปลงภาพให้อยู่ในรูปของภาพไบนารี่ จากภาพ(รูปที่ 5.3) จะเห็นว่า บริเวณ a. นั้นจุดภาพบริเวณพื้นหลังจะมีค่าความสว่างต่ำกว่าเทรดโฮล ซึ่งเป็นผลทำให้เกิดสิ่งรบกวนขึ้น ส่วนในบริเวณ b. เป็นสิ่งรบกวนที่เกิดจากวัตถุอื่นปนเปื้อนมากับชิ้นโครโมโซม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 5.4 ภาพไบนารี่ ของโครโมโซมเมื่อใช้เทรสโฮลสองค่า

การทำภาพไบนารี่ ด้วยวิธี Double Threshold จะสามารถกำจัดสิ่งรบกวนบางส่วนออกไปได้ ทำให้ภาพโครโมโซมที่ได้มีความสมบูรณ์มากขึ้น จากภาพ (รูปที่ 5.4) ในบริเวณ a. ภาพของโครโมโซมจะสามารถแยกออกจากสิ่งรบกวนได้เมื่อใช้ Double Threshold

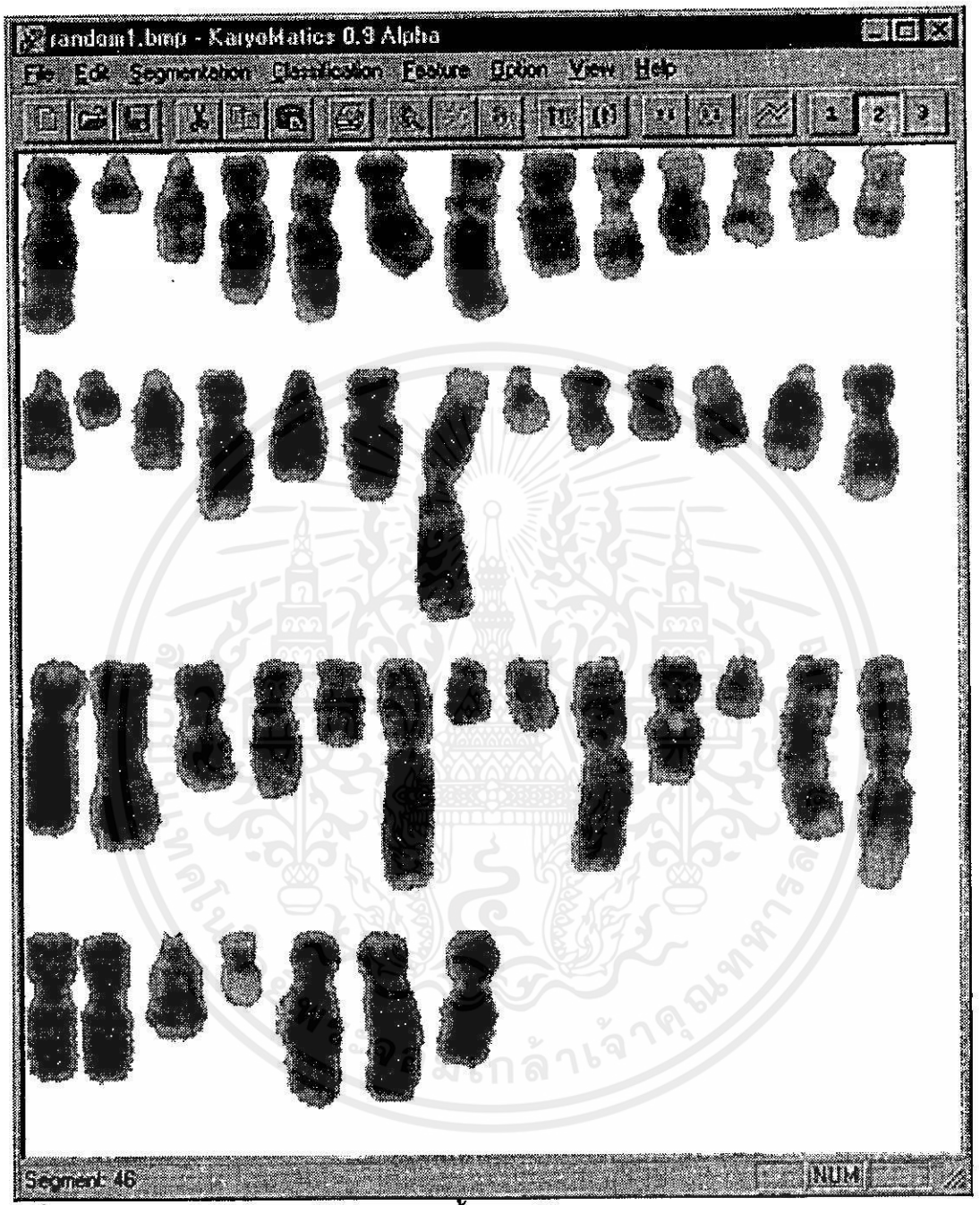
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 5.5 ผลของการหาขอบภาพโครโมโซมโดยใช้ Seed-fill Algorithm

โครโมโซมแต่ละชิ้นจะถูกกำหนดขอบเพื่อแยกกลุ่มของจุดภาพออกจากกัน ถ้าในภาพที่สแกนมีส่วนของวัตถุที่ไม่ใช่โครโมโซมปะปนเข้ามา(บริเวณ b.) ก็จะสามารถสังเกตุเห็นและลบออกได้ในขั้นตอนนี้ สำหรับในเซลคนปกติจะต้องมีโครโมโซมทั้งหมด 46 ชิ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



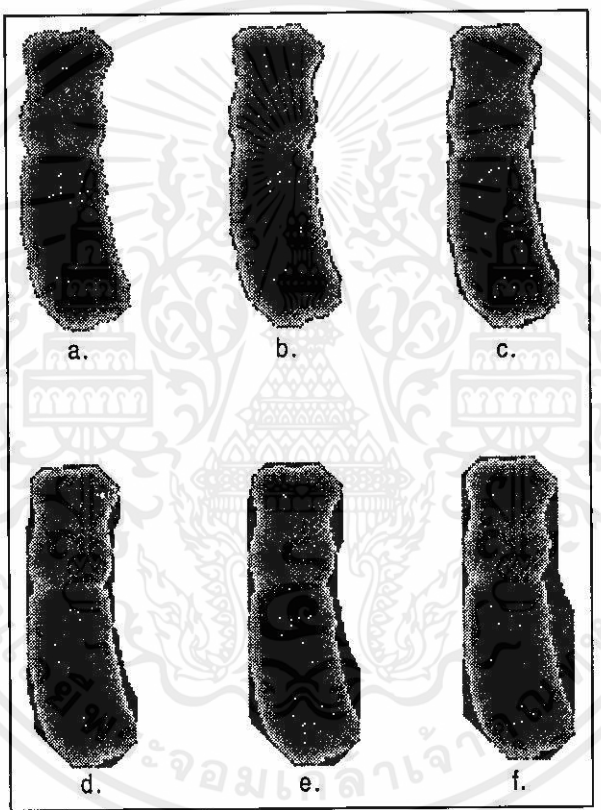
รูปที่ 5.6 ผลจากการแยกโครโมโซมออกจากพื้นหลัง

ข้อมูลของกลุ่มจุดภาพชิ้นโครโมโซมจะถูกแยกออกจากกันเพื่อนำเข้าสู่ขั้นตอนการหาลักษณะเฉพาะและการจำแนกชนิดของโครโมโซมต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ผลการปรับปรุงขอบภาพชิ้นโครโมโซม

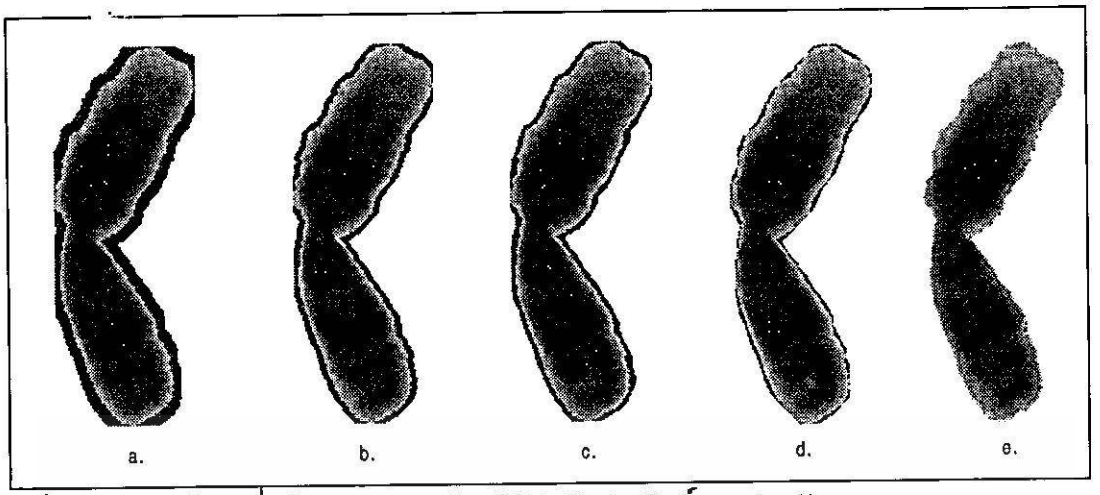
จากการทดลองพบว่าภาพของชิ้นโครโมโซมที่ได้ปรากฏมีรอยหยักบริเวณขอบภาพ. ซึ่งเกิดจากความไม่สม่ำเสมอของความเข้มจุดภาพบริเวณขอบ เมื่อมีการกำหนดค่าเทรดโฮลจึงทำให้มีบางส่วนของขอบภาพถูกตัดออกไป ลักษณะดังกล่าวมักจะก่อให้เกิดปัญหาอย่างมากในขั้นตอนการทำภาพวัตถุให้บาง (Thinning) การแก้ปัญหานี้สามารถทำได้โดยวิธี ไดเลชั่นด้วยจำนวนรอบที่เหมาะสม โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์(coefficient) เท่ากับ 4 ได้ผลลัพธ์ดังภาพ



รูปที่ 5.7 ผลจากการไดเลชั่นโดยใช้จำนวนรอบต่างๆกัน

จากภาพ a. ถึง f. เป็นผลของการไดเลชั่นโดยกำหนดจำนวนรอบเป็น 1, 3, 6, 12, 24 และ 48 รอบตามลำดับ จะเห็นได้ว่าหากกำหนดจำนวนรอบมากเกินไป จะทำให้ภาพของโครโมโซมเปลี่ยนโครงรูปไปจากเดิม ซึ่งจำนวนรอบที่เหมาะสมในการทดลองนี้คือ ประมาณ 3 รอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



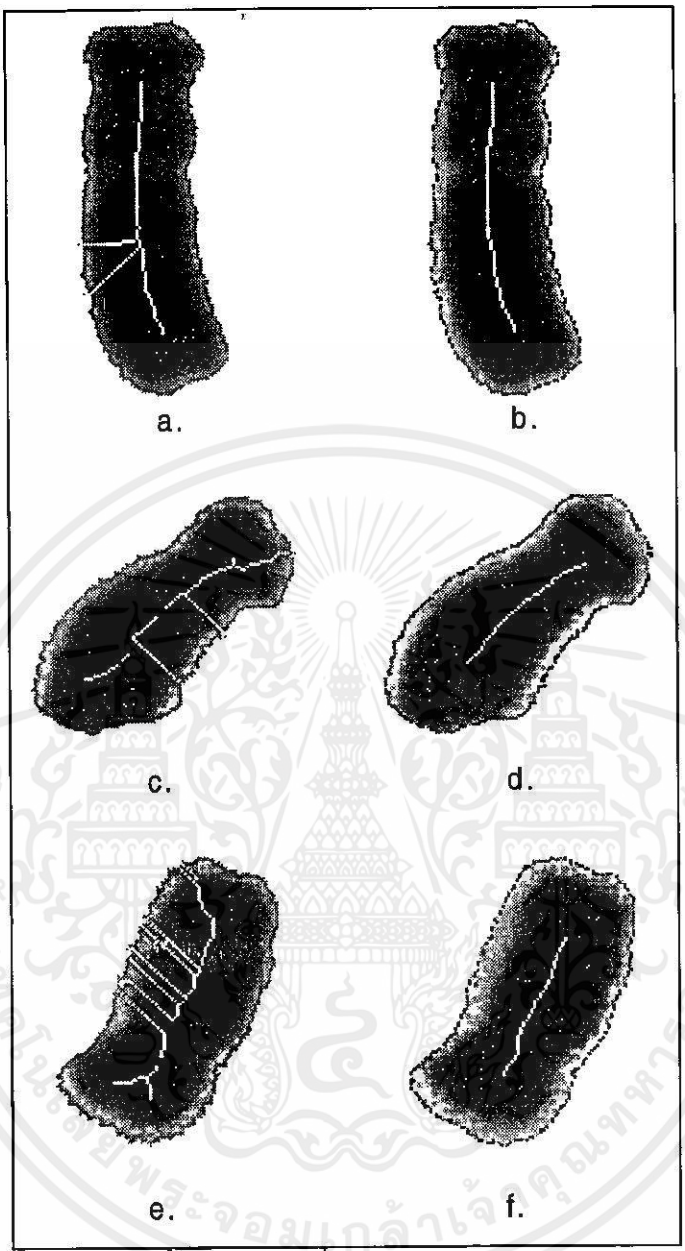
รูปที่ 5.8 การทำไดเลชั่นจำนวน 5 รอบ โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์แตกต่างกัน

จากภาพ a. - e. เป็นการทดลองเปลี่ยนค่าสัมประสิทธิ์ไดเลชั่นคือ 1,2,3,4 และ 5 ตามลำดับ พบว่าค่าที่เหมาะสมในการปรับขอบภาพให้เรียบคือ 4 ทั้งนี้เนื่องจากการทำไดเลชั่นโดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์เท่ากับ 4 จะเป็นการเติมเต็มจุดภาพในส่วนที่เว้าเข้ามาหรือส่วนที่เป็นรอยหยักที่ขอบภาพเท่านั้น โดยจะข้ามบริเวณส่วนที่เป็นผิวเรียบหรือส่วนที่นูนทั้งหมดไป ผลดีก็คือจะทำให้ขอบภาพเรียบและไม่เพิ่มความหนามากจนเกินไป ซึ่งการที่ขอบภาพขยายออกมากเกินไปนั้น อาจเป็นผลทำให้รูปร่างของโครโมโซมผิดไปจากเดิมได้

5.3 ผลการหาแกนของภาพ ด้วยวิธีทำวัตถุให้บาง (Thinning)

ผลลัพธ์ของการทำภาพวัตถุให้บางจะขึ้นกับความเรียบของขอบภาพ เป็นสำคัญ กล่าวคือ ภาพที่มีบริเวณขอบภาพไม่สมบูรณ์ หรือมีรอยหยักซึ่งเกิดจากการทำ Segmentation จะทำให้เส้นแกนที่ได้จากการทำ Thinning ไม่สมบูรณ์คือ เส้นแกนจะแตกเป็นกิ่ง และไม่ต่อเนื่อง ในการทดลอง เมื่อปรับบริเวณขอบภาพให้เรียบด้วยวิธีไดเลชั่นจะได้ผลลัพธ์ของเส้นแกนซึ่งมีความสมบูรณ์ขึ้นมาก ชิ้นของโครโมโซมเมื่อทำให้บางด้วย Thinning Algorithm จะได้ผลดังภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



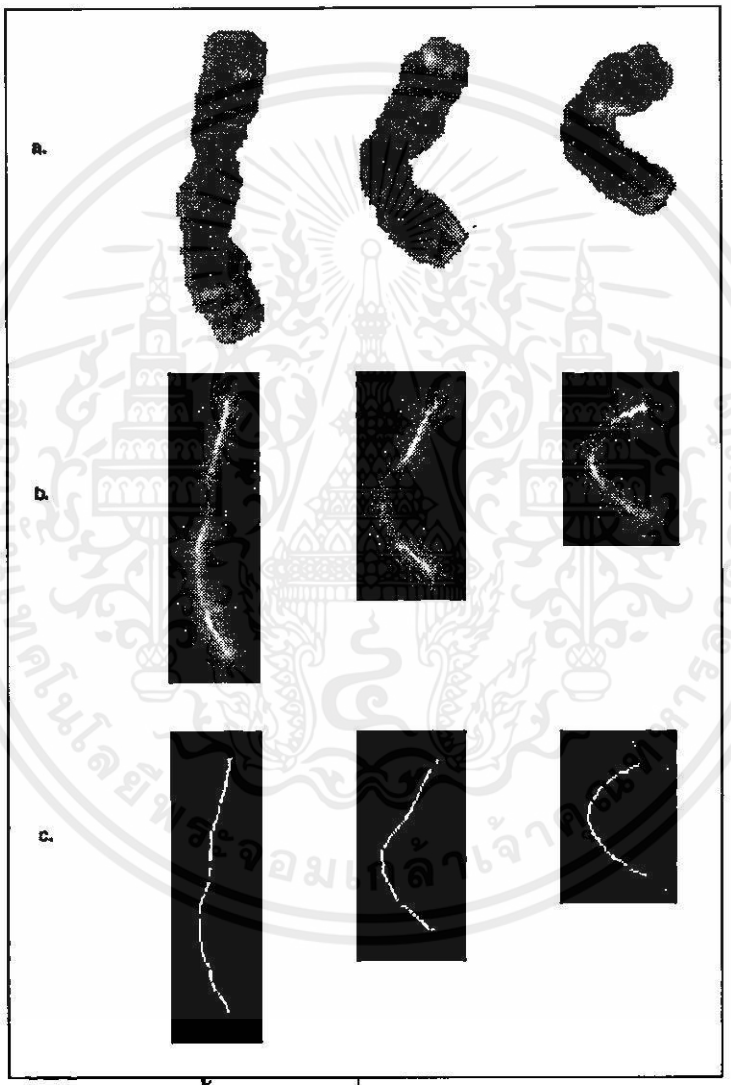
รูปที่ 5.9 ตัวอย่างแกนของภาพชิ้นโครโมโซมที่ได้จาก Thinning Alogrithm

จากภาพ a, c, e แสดงแกนซึ่งไม่สมบูรณ์ภาพซึ่งบริเวณขอบมีรอยหยัก ส่วนภาพ b, d, f แสดงแกนภาพที่สมบูรณ์หลังจากปรับขอบภาพให้เรียบด้วยวิธี ไดเลชั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.4 ผลการหาแกนของภาพ ด้วยวิธี Median Axis Tranform (MAT)

แกนของภาพสามารถหาได้อย่างรวดเร็ว ด้วยวิธี MAT โดยใช้เทคนิคการทำ Euclidient Distance Map (EDM) เข้ามาช่วย โดยผลที่ได้มีคุณภาพใกล้เคียงกับการทำ Thinning แต่ใช้เวลาในการคำนวณน้อยกว่ามาก



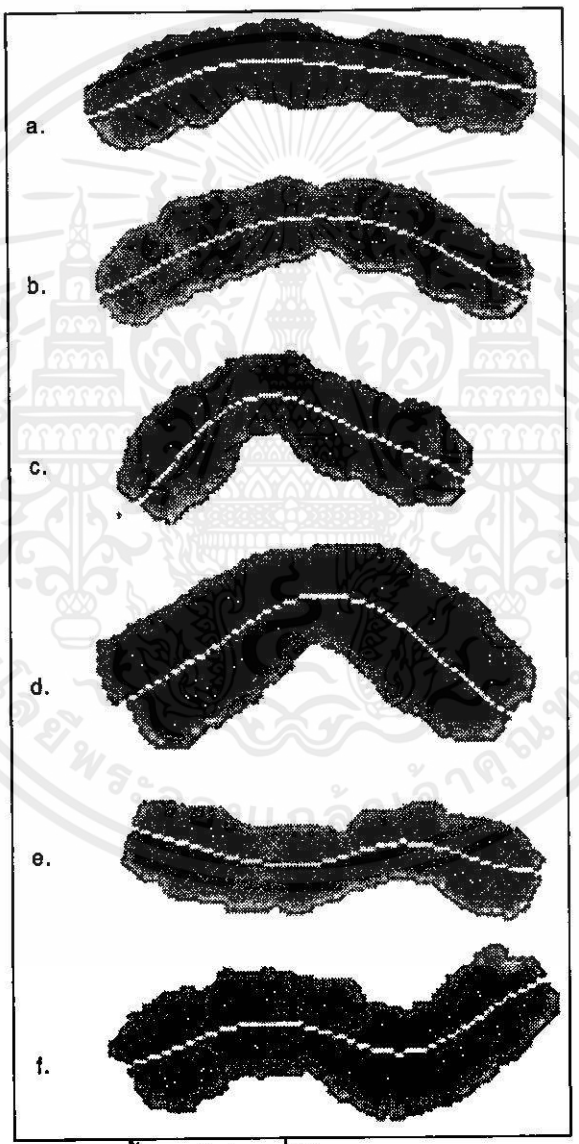
รูปที่ 5.10 ตัวอย่างแกนของภาพชิ้นโครโมโซมที่ได้จาก Median Axis Tranform

จากภาพ a, b, c แสดงภาพโครโมโซม, EDM, และ MAT ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.5 ผลการหาแกนของภาพด้วยวิธี Cubic Spline Interpolation

แกนของภาพซึ่งมีความสมบูรณ์และนำไปใช้ในการคำนวณหาลักษณะเฉพาะของโครโมโซมได้ง่ายนั้น สามารถหาได้จากการทำ Cubic Spline Interpolation ซึ่งผลที่ได้จากการ Interpolate นี้ (วิธีการในหัวข้อ 3.3) จะได้ โคออดิเนตของตำแหน่งแต่ละจุดบนแกนภาพเรียงต่อเนื่องตลอดแนวความยาวของชิ้นโครโมโซม ดังภาพ(รูปที่ 5.11)



รูปที่ 5.11 ตัวอย่างแกนของภาพชิ้นโครโมโซมที่ได้จาก Cubic Spline Interpolation

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.6 ผลการปรับภาพโครงรูปของโครโมโซมให้อยู่ในแนวตรง

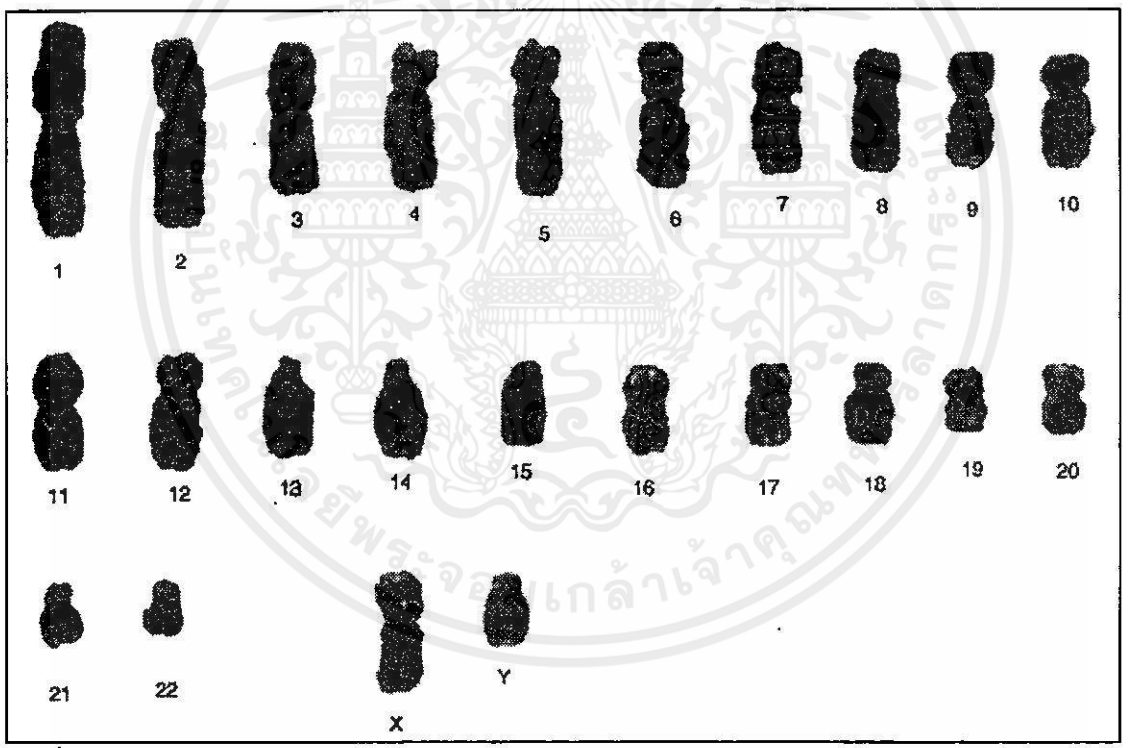
โครงรูปของชิ้นโครโมโซมที่มีการโค้งงอตามธรรมชาตินั้น นอกจากจะเป็นอุปสรรคในการหาลักษณะเฉพาะต่างๆ ด้วยวิธีการคำนวณทางคอมพิวเตอร์แล้ว ยังมีผลทำให้การวิเคราะห์หรือจำแนกชนิดของโครโมโซมด้วยสายตาของแพทย์ผู้เชี่ยวชาญเองมีความยากลำบากยิ่งขึ้น และอาจเกิดความผิดพลาดได้ง่ายอีกด้วย ดังนั้นการปรับภาพโครโมโซมให้อยู่ในแนวตรงโดยนำข้อมูลของจุดภาพซึ่งตั้งฉากกับแนวแกนมาเรียงประกอบกันใหม่ในแนวเส้นตรงนั้น จะทำให้ได้ภาพโครโมโซมในแนวตรง ซึ่งยังคงลักษณะเฉพาะต่างๆไว้ได้ใกล้เคียงภาพเดิม ซึ่งจะเป็นประโยชน์อย่างมากในการจำแนกโครโมโซมด้วยการวิเคราะห์จากแพทย์ผู้เชี่ยวชาญ ต่อไป

รูปที่ 5.12 ตัวอย่างภาพโครโมโซมเมื่อปรับให้อยู่ในแนวตรง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.7 ผลการหาลักษณะเฉพาะของชุดโครโมโซมมาตรฐาน

ชุดโครโมโซมมาตรฐาน(รูปที่ 5.13) เป็นชุดของภาพโครโมโซมซึ่งสามารถสังเกตุเห็นรายละเอียดของลักษณะเฉพาะทั้ง 3 ได้แก่ ความยาว, จุดเซ็นโตรเมีย และการกระจายความของแถบความเข้ม ได้อย่างชัดเจน และได้ทำการจำแนกประเภทของโครโมโซมแต่ละชิ้นไว้อย่างถูกต้องโดยแพทย์ผู้เชียวชาญ โดยค่าลักษณะเฉพาะที่ได้นี้จะนำมาใช้เป็นต้นแบบในการเปรียบเทียบเพื่อจำแนกชนิดของภาพโครโมโซมตัวอย่าง ผลการหาค่าสัดส่วนความยาว, และสัดส่วนของระยะจุดเซ็นโตรเมียได้แสดงในตาราง 5.1 ส่วนผลการหาการกระจายของแถบความเข้มบนชิ้นโครโมโซมได้แสดงในรูป 5.14



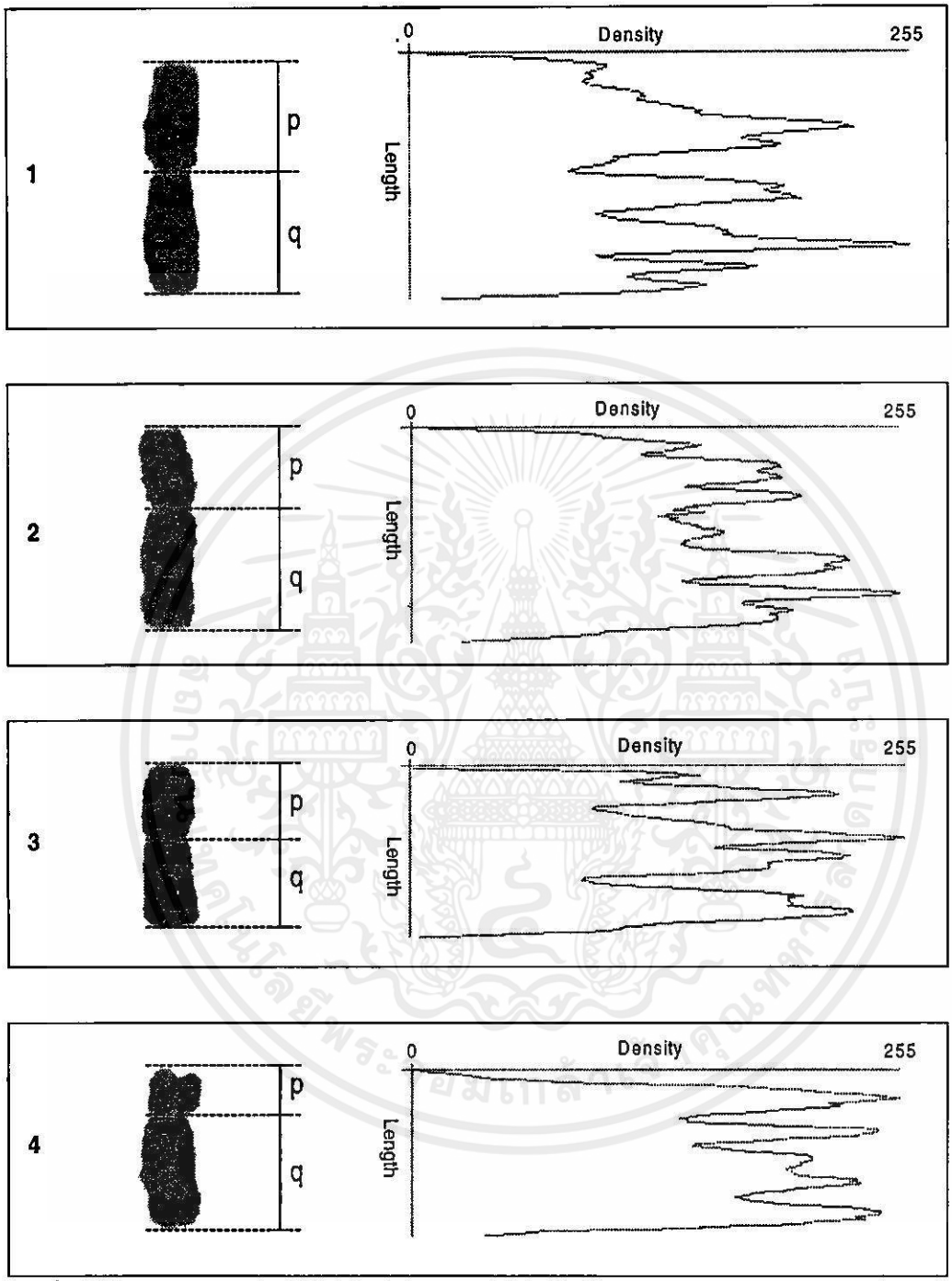
รูปที่ 5.13 ชุดโครโมโซมมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5.1 ผลการหาลักษณะเฉพาะของชุดโครโมโซมมาตรฐาน

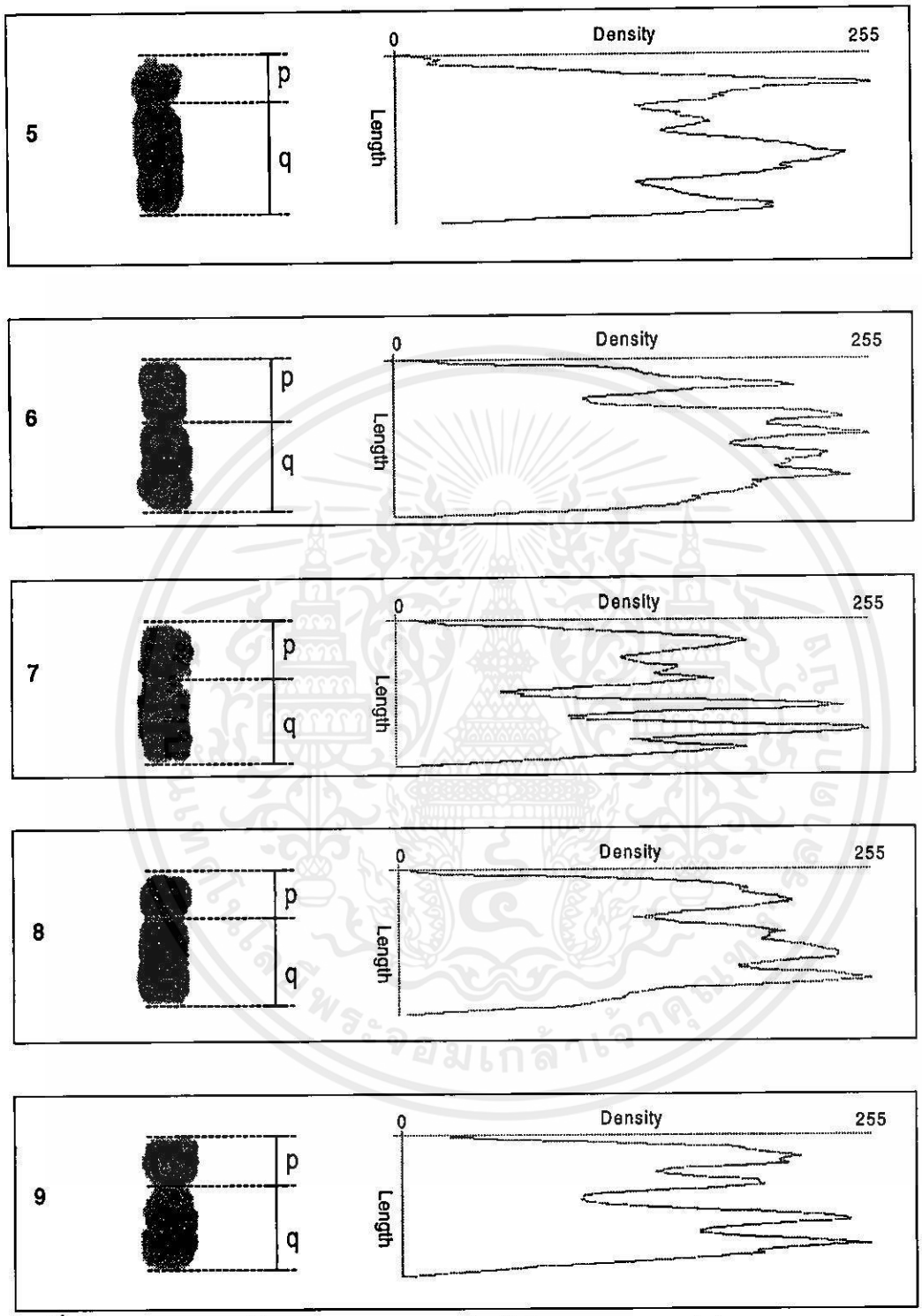
คู่ที่	Short Arm (p)	Long Arm (q)	สัดส่วนระยะเซ็นโตรเมีย (p/q)	ความยาว	สัดส่วน % ความยาว
1	57	60	0.95	117	100.00
2	41	62	0.66	103	88.03
3	39	44	0.89	83	70.94
4	26	56	0.46	83	70.94
5	21	60	0.35	81	69.23
6	33	48	0.69	81	69.23
7	32	41	0.78	73	62.39
8	25	44	0.57	69	58.97
9	26	38	0.68	64	54.70
10	21	42	0.50	63	53.85
11	29	34	0.85	63	53.85
12	22	43	0.51	65	55.56
13	0	55	0	55	47.01
14	0	55	0	55	47.01
15	0	48	0	48	41.03
16	21	26	0.81	47	40.17
17	14	31	0.45	45	38.46
18	13	32	0.41	45	38.46
19	18	19	0.95	37	31.62
20	17	22	0.77	39	33.33
21	0	34	0	34	29.06
22	0	31	0	31	26.50
X	27	39	0.69	66	56.41
Y	0	41	0	41	35.04

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



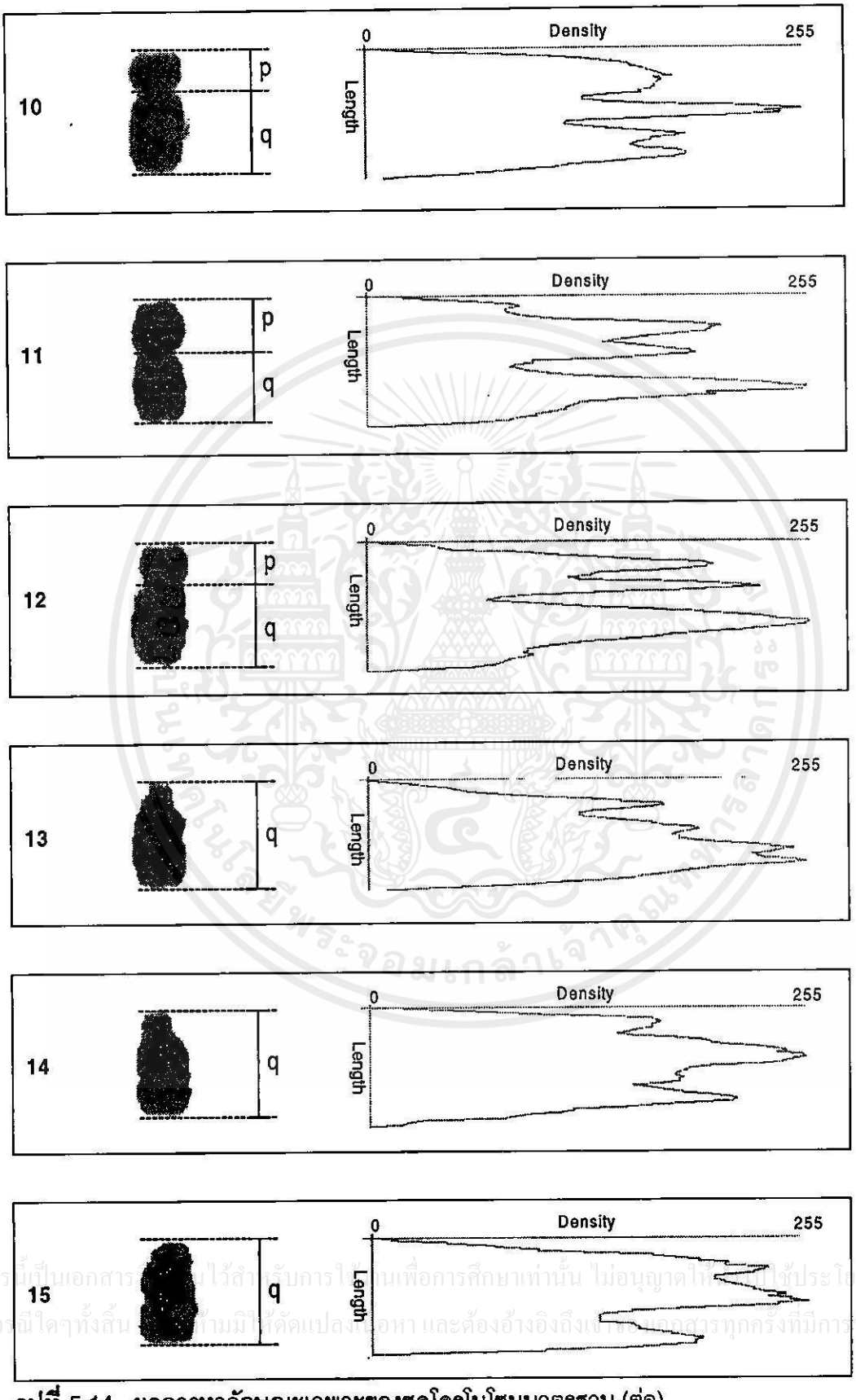
รูปที่ 5.14 ผลการหาลักษณะเฉพาะของชุดโครโมโซมมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



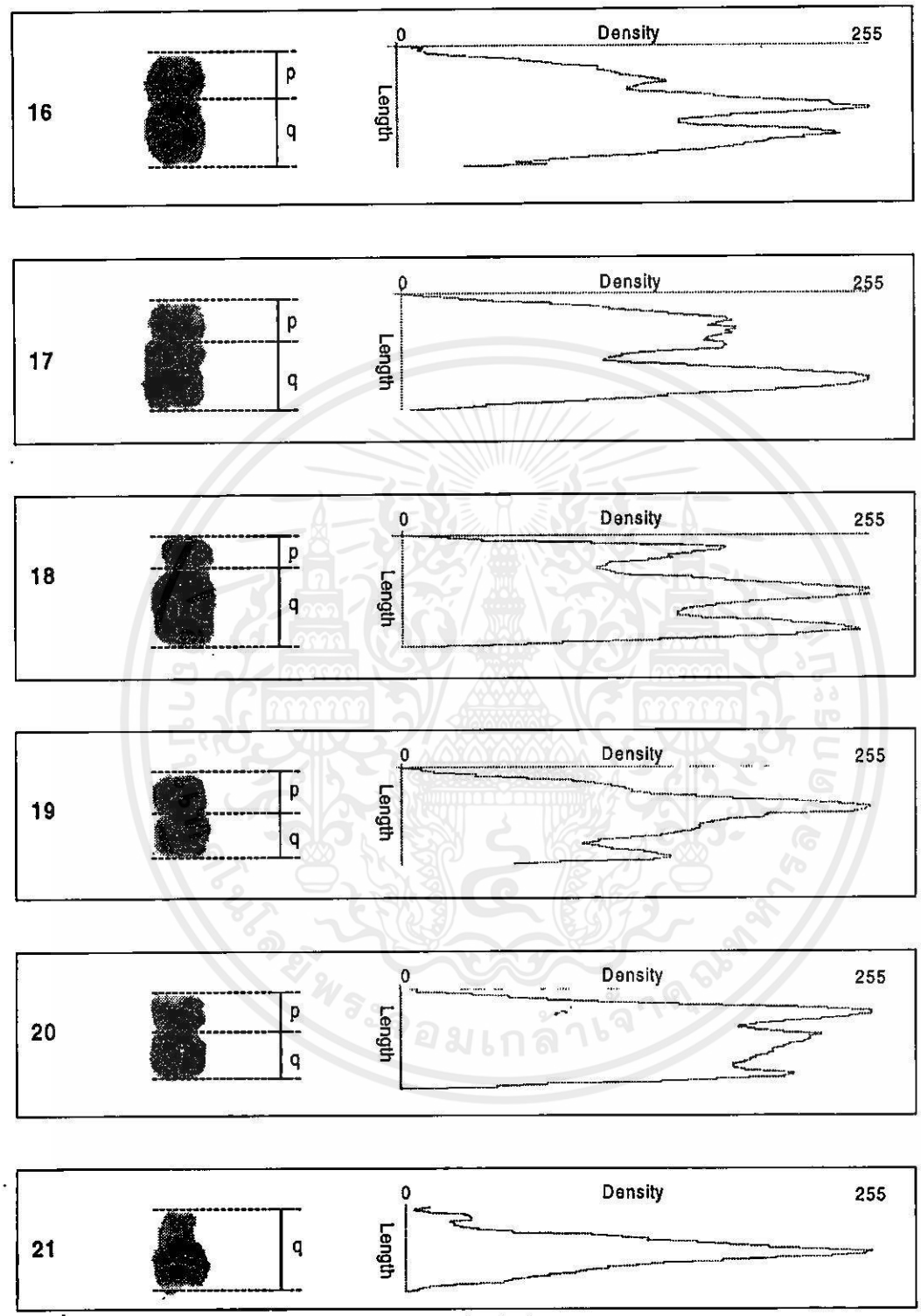
รูปที่ 5.14 ผลการหาลักษณะเฉพาะของชุดโครโมโซมมาตรฐาน (ต่อ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



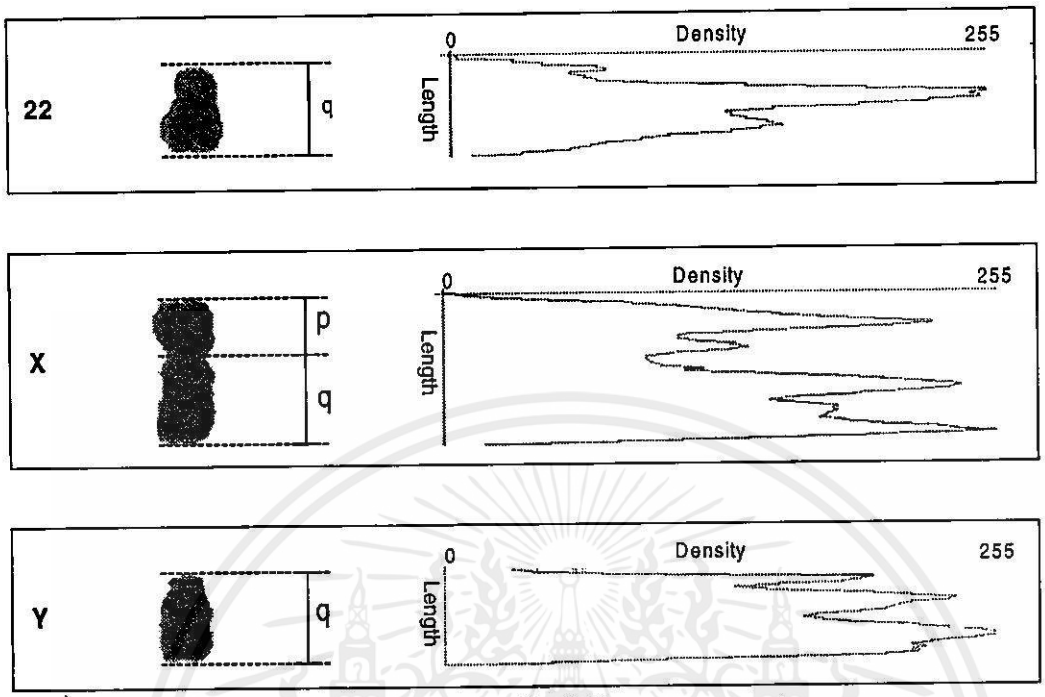
รูปที่ 5.14 ผลการหาลักษณะเฉพาะของชุดโครโมโซมมาตรฐาน (ต่อ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 5.14 ผลการหาลักษณะเฉพาะของชุดโครโมโซมมาตรฐาน (ต่อ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 5.14 ผลการหาลักษณะเฉพาะของชุดโครโมโซมมาตรฐาน (ต่อ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.8 ผลการจำแนกชนิดของโครโมโซม

จากการทดลองโดยใช้ภาพโครโมโซมตัวอย่างจำนวน 30 ภาพ เพื่อทำการจำแนกชนิดของโครโมโซมในแต่ละภาพซึ่งมีจำนวน 23 คู่ หรือ 46 โครโมโซม คิดเป็นจำนวนโครโมโซมที่ใช้ในการทดลองทั้งหมด 1,380 โครโมโซม และเปรียบเทียบผลที่ได้กับภาพคารีโอไทป์ที่ถูกต้องของโครโมโซมซึ่งจำแนกโดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญ ได้ผลดังตารางต่อไปนี้

ตารางที่ 5.2 ผลการจำแนกชนิดของโครโมโซมตัวอย่าง

ตัวอย่างที่	จำนวนชิ้นของโครโมโซมที่จำแนกได้	ถูก	ผิด	%ความถูกต้อง
1	33	33	3	71.74
2	37	30	7	65.22
3	37	31	6	67.39
4	36	29	7	63.04
5	38	33	5	71.74
6	36	30	6	65.22
7	41	37	4	80.43
8	38	31	7	67.39
9	30	27	3	58.70
10	39	38	1	82.61
11	36	30	6	65.22
12	39	35	4	76.09
13	42	38	4	82.61
14	35	30	5	65.22
15	35	28	7	60.87
16	36	30	6	65.22
17	41	39	2	84.78
18	39	39	0	84.78
19	41	37	4	80.43
20	36	32	4	69.57

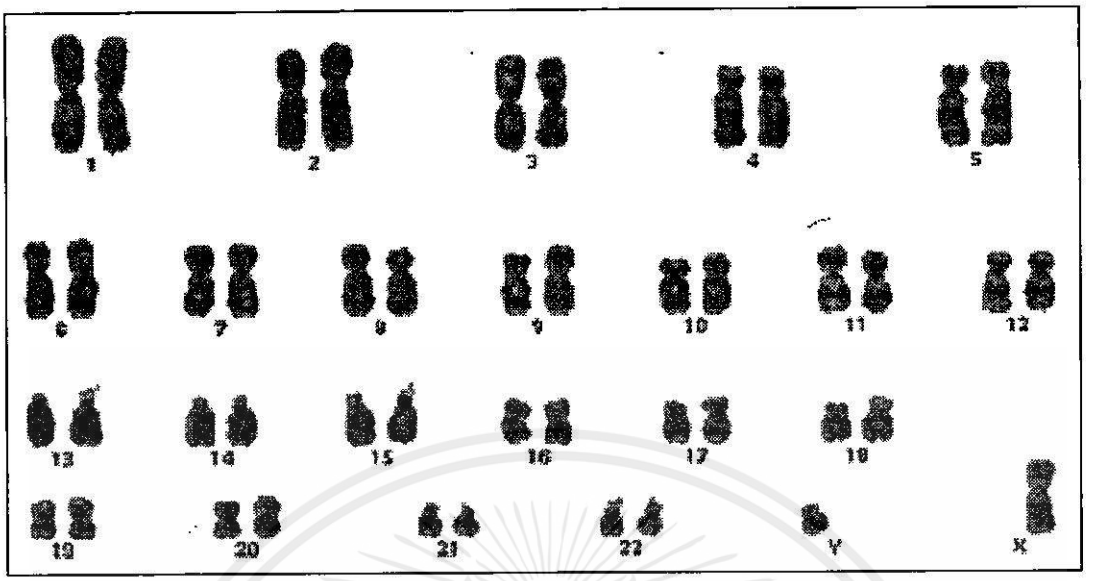
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

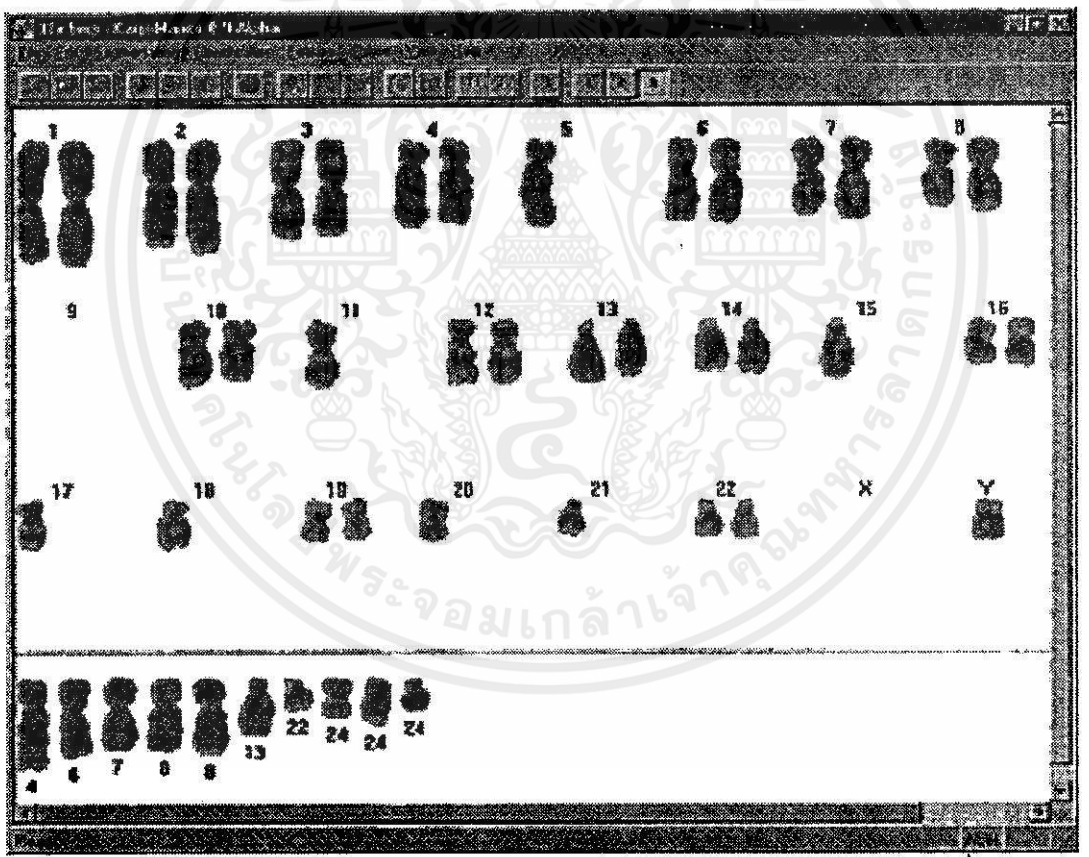
ตารางที่ 5.2 (ต่อ)

ตัวอย่างที่	จำนวนชิ้นของโครโมโซมที่จำแนกได้	ถูก	ผิด	%ความถูกต้อง
21	40	37	3	80.43
22	38	32	6	69.57
23	38	33	5	71.74
24	35	27	8	58.70
25	36	29	7	63.04
26	34	29	5	63.04
27	38	35	3	76.09
28	32	29	3	63.04
29	34	27	7	58.70
30	37	33	4	71.74

ค่าเปอร์เซ็นต์ความถูกต้องเฉลี่ยเท่ากับ 70.15%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้





รูปที่ 5.15 ตัวอย่างภาพผลการจำแนกชนิดโครโมโซมเปรียบเทียบกับภาพคาริโอไทป์ที่ถูกต้อง

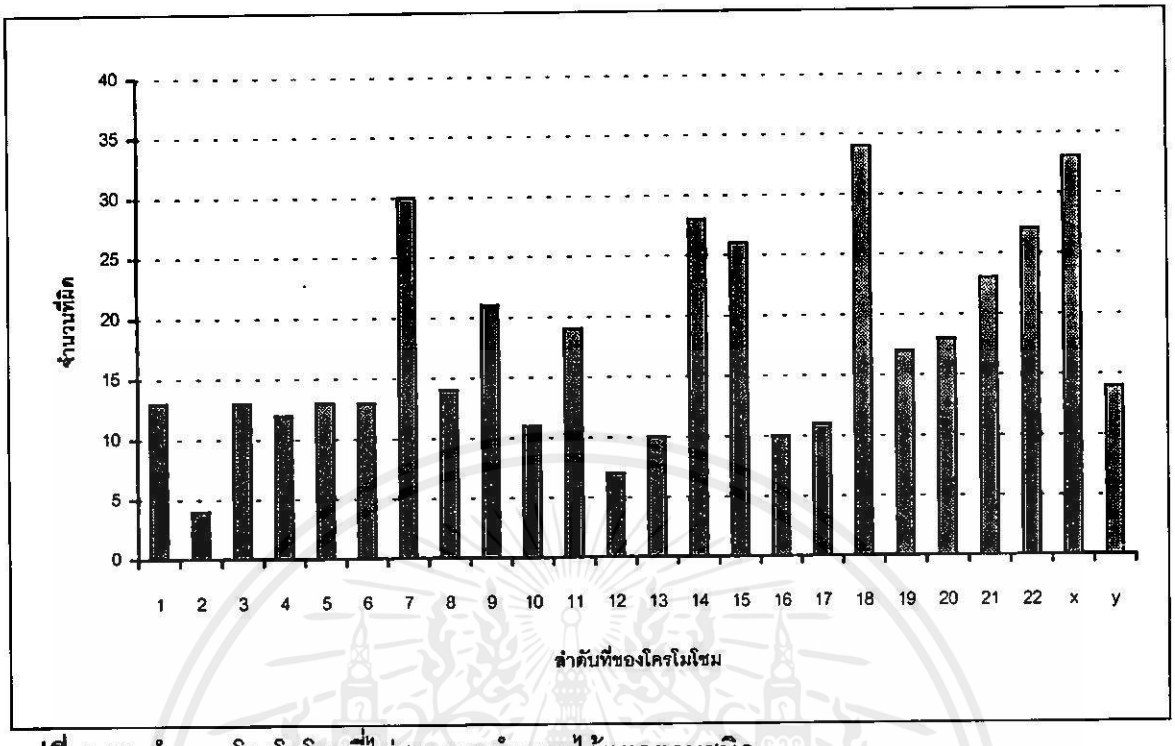
โครโมโซมทั้งหมดจำนวน 46 ชิ้น จำแนกได้ถูกต้อง 33 ชิ้น คิดเป็น 71.74%

เอกสารนี้เป็นลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ห้ามมิให้ผู้ใดนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

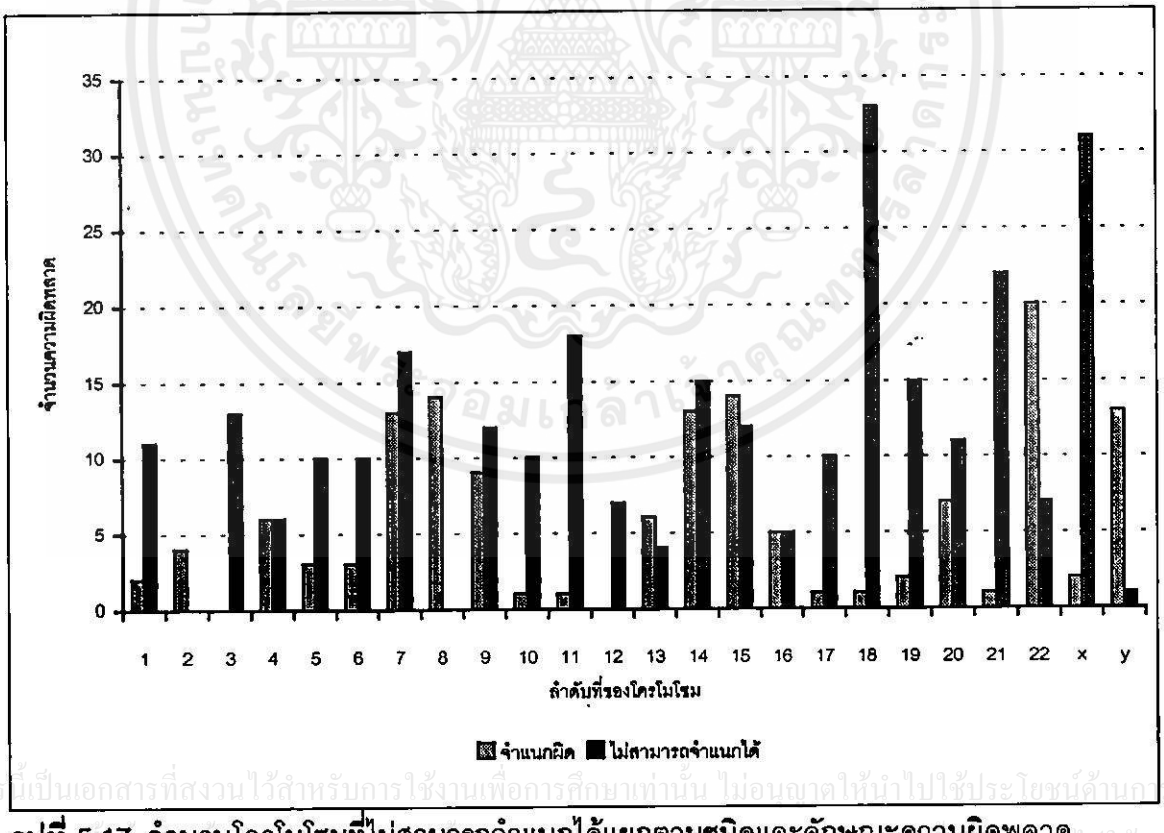
ตารางที่ 5.3 จำนวนโครโมโซมที่จำแนกผิดพลาดแยกตามชนิดของโครโมโซม

ชนิดที่	จำแนกผิด	จำแนกไม่ได้
1	2	11
2	4	0
3	0	13
4	6	6
5	3	10
6	3	10
7	13	17
8	14	0
9	9	12
10	1	10
11	1	18
12	0	7
13	6	4
14	13	15
15	14	12
16	5	5
17	1	10
18	1	33
19	2	15
20	7	11
21	1	22
22	20	7
23(x)	2	31
23(y)	13	1
รวม	**141**	**280**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 5.16 จำนวนโครโมโซมที่ไม่สามารถจำแนกได้แยกตามชนิด



รูปที่ 5.17 จำนวนโครโมโซมที่ไม่สามารถจำแนกได้แยกตามชนิดและลักษณะความผิดพลาด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 6
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การวิจัยนี้ได้ทำการพัฒนาซอฟแวร์ต้นแบบซึ่งเป็นเครื่องมือสำหรับการจัดคาริโอไทป์ โดยมีขั้นตอนการทำงาน เริ่มจากอ่านข้อมูลภาพโครโมโซมซึ่งเป็น เกรสเกลบิตเม็ป นำมาวิเคราะห์หาค่าเทรสโฮลที่เหมาะสมเพื่อแปลงให้เป็นภาพแบบไบนารี่ ซึ่งทำให้ง่ายต่อการหาขอบภาพและจากนั้นจึงทำการตัดภาพแต่ละชิ้นของโครโมโซมออกแยกจากกัน เพื่อนำไปสู่ขั้นตอนการหาลักษณะเฉพาะคือความยาวตามแนวแกน, ระยะจุดเซ็นโตรเมียและการกระจายของแถบความเข้มบนชิ้นโครโมโซม ซึ่งผลที่ได้จะนำไปใช้ในการจำแนกชนิดและได้ผลลัพธ์เป็นภาพคาริโอไทป์ของโครโมโซมซึ่งมีความถูกต้องในระดับหนึ่ง จากผลการทดลองโดยเปรียบเทียบผลของภาพคาริโอไทป์ที่ได้จากการจำแนกด้วยวิธีการทางคอมพิวเตอร์ กับภาพคาริโอไทป์ซึ่งทำการจำแนกโดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญ จำนวน 30 ตัวอย่าง ได้ค่าเปอร์เซ็นความถูกต้องเฉลี่ยเท่ากับ 70.15%

ในขั้นตอนวิธีทั้งหมดดังกล่าวข้างต้นนั้น ขั้นตอนการหาลักษณะเฉพาะของชิ้นโครโมโซมจะเป็นส่วนซึ่งได้เน้นรายละเอียดของการทดลองมากที่สุด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเรื่องของการหาแกนภาพชิ้นโครโมโซม ซึ่งได้มีการทดลองเปรียบเทียบในที่นี้ถึง 3 วิธีด้วยกันคือ การหาแกนภาพโดยใช้เทคนิคการทำวัตถุให้บาง(Thinning), การหาแกนภาพโดยวิธี Median Axis Transform, และการหาแกนโดยการทำ Cubic Splines Interpolation จากการทดลองสามารถเปรียบเทียบผลของลักษณะแกนที่ได้และผลของความเร็วในการทำงานของแต่ละวิธีได้ดังตาราง 6.1 ซึ่งสรุปได้ว่าแกนของภาพที่ได้จากวิธี Cubic Splines Interpolation นั้น ให้ผลลัพธ์ดีที่สุดใน 3 วิธีนี้ และมีความเหมาะสมที่สุดในการนำไปใช้เป็นแกนหลักของภาพ เพื่อการหาลักษณะเฉพาะของโครโมโซมได้

เนื่องจากลักษณะของภาพชิ้นโครโมโซมบางภาพซึ่งโคงงอตามธรรมชาตินั้น เป็นอุปสรรคอย่างมากในการหาลักษณะเฉพาะต่างๆ ซึ่งจะทำให้ผลการจำแนกมีความผิดพลาดสูง ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องอาศัยแกนของภาพโครโมโซมเพื่อใช้เป็นแนวแกนหลัก ซึ่งนอกจากจะทำให้สามารถวัดค่าลักษณะเฉพาะต่างๆได้ถูกต้องแม่นยำมากขึ้นแล้ว ยังสามารถนำมาใช้ในการปรับแนวของชิ้นโครโมโซมที่โคงงอให้กลับมาอยู่ในแนวเส้นตรงได้ อย่างไรก็ตามวิธีการปรับโครโมโซมให้อยู่ในแนวตรงนี้ อาจทำให้ข้อมูลของจุดภาพบางส่วนขาดหายไปบ้างแต่ผลลัพธ์ของภาพที่ได้ก็ยังคงรายละเอียดที่สำคัญของชิ้นโครโมโซมไว้ได้เป็นอย่างดี แม้ว่าการปรับแนวของชิ้นโครโมโซมนี้จะไม่มีผลต่อการจำแนกชนิดด้วยวิธีการทางคอมพิวเตอร์ แต่ภาพโครโมโซมในแนว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรงที่ได้นั้นจะมีประโยชน์อย่างมากที่จะช่วยให้การวิเคราะห์ด้วยสายตาโดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญให้ทำได้ง่ายและมีความถูกต้องมากขึ้น

ตารางที่ 6.1 เปรียบเทียบผลที่ได้จากการหาแกนด้วยวิธีต่างๆ

วิธีที่ใช้	ผลลัพธ์	ความเร็ว	เวลา (วินาที)*
Thinning Algorithm	ได้คุณภาพของเส้นแกนอยู่ในเกณฑ์ดี (เมื่อมีการปรับขอบภาพแล้ว)	ใช้เวลาในการคำนวณสูง โดยมีค่า Complexity เท่ากับ $O\left(n^{1\frac{1}{2}}\right)$ (เมื่อ n = จำนวนจุดภาพ)	250
Medien Axis Transform	คุณภาพของเส้นแกนไม่ดี เนื่องจากได้เส้นที่ไม่ต่อเนื่อง	ความเร็วสูง มีค่า Complexity เท่ากับ $O(n)$	11
Cubic Splines Interpolation	ได้เส้นแกนเรียบ ต่อเนื่อง และสามารถนำไปใช้ต่อได้ง่ายเนื่องจาก ผลที่ได้เป็นสมการทางคณิตศาสตร์	ความเร็วสูง มีค่า Complexity เท่ากับ $O(n)$	3

* ระยะเวลาที่ใช้ในการประมวลผลภาพชิ้นโครโมโซมตัวอย่าง 1000 รอบ

วิธีการจำแนกชนิดของโครโมโซมโดยใช้ค่าผลต่างกำลังสอง(Mean Square Error) ในการเปรียบเทียบค่าลักษณะเฉพาะของโครโมโซมตัวอย่างกับโครโมโซมมาตรฐานนั้น แม้จะมีความถูกต้องในระดับหนึ่ง แต่ก็ยังมีขีดจำกัดอยู่บ้าง กล่าวคือ เนื่องจากมีความไม่แน่นอน(Variation) ของลักษณะแถบความเข้มและรูปร่างของชิ้นโครโมโซม ซึ่งอาจเป็นผลมาจากขั้นตอนวิธีการเตรียมเซล, การย้อมสีโครโมโซม หรืออาจเกิดจากสิ่งรบกวนในภาพ นอกจากนั้นบางครั้งยังมีการซ้อนทับกันของชิ้นโครโมโซมอีกด้วย ซึ่งสิ่งเหล่านี้จะทำให้การจำแนกด้วยวิธีดังกล่าวมีความคลาดเคลื่อนได้สูง และเนื่องจากโครโมโซมบางคู่มีความคลายคลึงกันมากความไม่ชัดเจนของแถบความเข้มก็อาจทำให้การเปรียบเทียบด้วยวิธีนี้มีการจำแนกผิดได้ เทคนิควิธีในการจำแนกโครโมโซมนี้ยังสามารถพัฒนาต่อได้อีกมากโดยอาจใช้ เทคนิคทางด้านโครงข่ายประสาทเทียม(Neural Network) หรือฟัสซี่ลอจิก(Fuzzy Logic) มาช่วยในการจำแนกซึ่งจะทำให้ผลที่ได้มีความถูกต้องมากยิ่งขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

[1] Alan E.H. Emery, Robert F. Mueller. Elements of Medical Genetics. Churchill Livingstone Medical Division of Longman Group UK Ltd. 1992. pp. 101-155.

[2] เกษมสันต์ คูภานุมาต, บุญธีร์ เครือตราชู. "การหาลักษณะเฉพาะของภาพโครโมโซมเพื่อใช้ในการจำแนกชนิดโดยอัตโนมัติ." การประชุมวิชาการทางวิศวกรรมไฟฟ้า ครั้งที่ 21, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, 2542 .หน้า 174-177.

[2] เชาว์ ชิโนรักษ์, พรรณี ชิโนรักษ์. ชีววิทยา 1. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2540. หน้า 179-189.

[3] J.R. Parker. "Gray Level Thresholding in Badly Illuminated Images." IEEE Transactions on pattern analysis and machine intelligence, Vol 13, no. 8, 1991. pp. 813-819.

[3] วสันต์ จันทราทิตย์. "Fluorescent Based Technologies and Human Genome Project." วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่, ปีที่ 30, ฉบับที่ 2, พฤษภาคม 2540. หน้า 133-154.

[4] S.W. Katz, A.D. Brink. "Segmentation of Chromosome Images." International Conference of IEEE Engineering in Medicine and Biology, 1993. pp. 85-88.

[5] Frans C.A. GROEN, Ton K. ten KATE, Arnold W.M. SMEULDERS, Ian T. YOUNG. "Human Chromosome Classification Based on Local Band Descriptors." Pattern Recognition Letters 9, North-Holland: Elsevier Science Publishers B.V. 1989. pp. 211-222.

[6] Phil A. Errington, Jim Graham. "Classification of Chromosomes using a Combination of Neural Networks." IEEE Transactions on Neural Networks, 1993. pp. 1236-1241.

[7] Jongman Cho, Seunghong Hong. "The Number of Processing Elements in Hidden-Layer of Back-Propagation Neural Network for Karyotyping." IEEE-EMBC and CMBEC Theme4: Signal Processing, 1995. pp. 827-828.

[8] James M. Keller, Paul Gader, Ozy Sjahputera. "A Fuzzy Logic Rule-Base System for Chromosome Recogniton." Eighth IEEE Symposium on Computer-Based Medical Systems, 1995. pp. 125-132.

[9] Kenneth R. Castleman. Digital Image Processing. New Jersey : Prentice Hall, Inc. 1996.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[10] Foley, van Dam, Feiner, Hughes. **Computer Graphics Principles and Practice.** Addison-Wesley Publishing Company, Inc. 1990.

[11] Theo Pavlidis. **Algorithms for Graphics and Image Processing.** Bell Laboratories. 1982.

[12] John C. Russ. **The Image Processing Handbook.** CRC Press. 1994. pp. 463-475.

[13] Steven C. Chapra, Raymond P. Canale. **Numerical Methods for Engineers.** McGRAW-HILL Book Company. 1990. pp. 387-399.

[14] David J. Kruglinski. **Inside Visual C++.** Microsoft Press. 1997.

[15] Jame M. Keller. "A Fuzzy Logic Rule-Based System for Chromosome Recognition." Eighth IEEE Symposium on Computer-Based Medical Systems, 1995. pp. 125 -132.

[16] Mike Blaszczak. **Professional MFC Visual C++ 5.** Wrox Press Ltd. 1997.

[17] Selim Eskiizmirliler. "A Hybrid Intelligent Diagnostic System Based on Neural Networks and Image Analysis Techechniques in the field of automated Cytogenetics." IEEE Transactions on Neural Networks, 1996. pp. 315 -318.

[18] Vic Broquard. **Intermediate MFC.** Prentice Hall PTR. 1998.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหาลักษณะเฉพาะของภาพโครโมโซม เพื่อใช้ในการจำแนกชนิดโดยอัตโนมัติ

Feature Extraction of Chromosome Image for Automated Classification

เกษมสันต์ ภูภานุมาต* และ บุญธีร์ เครือตราชู**

*ภาควิชาเทคโนโลยีสารสนเทศ คณะเทคโนโลยีสารสนเทศ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

**ภาควิชาวิศวกรรมคอมพิวเตอร์ คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

แขวงลาดกระบัง เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

โทร (02) 8884257, 6448101 โทรสาร 6448107 E-Mail:ksemsant@biotec.or.th

บทคัดย่อ

การจำแนกและวิเคราะห์ภาพโครโมโซม ที่ได้จากกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง เป็นงานที่มีความสำคัญทางด้านเวชพันธุศาสตร์ เพื่อทำการตรวจสอบและวินิจฉัยโรค ซึ่งเกิดจากความผิดปกติทางพันธุกรรม ในงานวิจัยนี้ได้พัฒนาขั้นตอนการเตรียมข้อมูลที่จำเป็นเพื่อใช้จำแนกชนิดโครโมโซมของมนุษย์ โดยนำเสนอวิธีการหาแนวแกนกลางของภาพชิ้นโครโมโซมอย่างรวดเร็ว ด้วยเทคนิคการทำ Medial Axis Transform และ Cubic Splines Interpolation แนวแกนที่ได้สามารถใช้เป็นแกนหลักในการวัดความยาว ระยะของจุดเซนโตรเมียร์ และหารูปแบบการกระจายของแถบความเข้มบนชิ้นโครโมโซมได้ ข้อมูลเฉพาะของโครโมโซมเหล่านี้จะนำไปใช้จำแนกชนิดของโครโมโซมต่อไป

Abstract

The classification and analysis of microscropic chromosome images is an important task in medical genetic to inspect and diagnose abnormal genetic diseases. This research is developed the data pre-processing algorithm for the human chromosome classification. By using Medial Axis Transform and Cubic Splines Interpolation technique to find the medial axis of the bent chromosome image. These techniques track to identify the chromosome features which are the length, centromere position and band distribution profile in order to classify the chromosome.

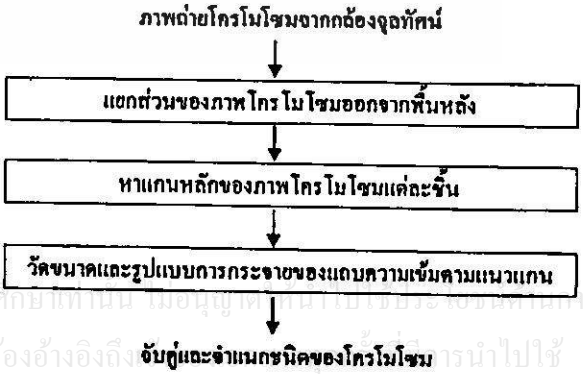
1. บทนำ

โครโมโซมเกิดจากการขดและม้วนตัวของสายดีเอ็นเอ (DNA) ซึ่งเป็นสารพันธุกรรมกับโปรตีนซึ่งอยู่ภายในนิวเคลียส จากการศึกษาลักษณะโครงรูปของโครโมโซมพบว่า เซลที่มีการแบ่งตัวอยู่ในระยะเมตาเฟสจะมีการขดและบีบตัวของสายโครโมโซมแต่ละเส้นจนมีลักษณะเป็นโครงรูปแท่ง มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1400 นาโนเมตร สามารถสังเกตเห็นได้ชัดเจนด้วยกล้องจุลทัศน์กำลังขยายสูง โดยจะมีจำนวน ขนาด และรูปร่างแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด (Species) ภายในโครโมโซมจะประกอบด้วยชุดของยีนที่มีหน้าที่ควบคุมกลไกการทำงานต่างๆ ในสิ่งมีชีวิต รวมทั้งควบคุมการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรม ดังนั้นการศึกษาโครงรูปและลักษณะเฉพาะของโครโมโซมแต่ละแท่ง จะทำให้ทราบถึงแนวโน้มของการเกิดโรคทางพันธุกรรมบางชนิดซึ่งมีสาเหตุมาจากความผิดปกติของยีนบนโครโมโซม การจัดเรียงโครโมโซมที่มีลักษณะเหมือนกันเป็นคู่ๆ (Homologous pairs) โดยมีการกำหนดลำดับที่แน่นอนของโครโมโซมแต่ละคู่ เรียกว่าการจัดคารีโอไทป์ (Karyotyping) ในสิ่งมีชีวิตจะมีรูปแบบการจัดคารีโอไทป์ที่เฉพาะแตกต่างกันไป สำหรับในมนุษย์ (*Homo sapiens*) จะมีโครโมโซมทั้งหมด 23 คู่ หรือ 46 โครโมโซม ในทางการแพทย์การจัดคารีโอไทป์เป็นวิธีหนึ่งซึ่งใช้ประกอบการวินิจฉัยโรคทางพันธุกรรมบางอย่าง เช่นโรคดาวน์ซินโดรม เป็นต้น[1]

เนื่องจากการจัดคารีโอไทป์มีขั้นตอนที่ยุ่งยากและใช้เวลานาน และผลที่ได้ยังขึ้นอยู่กับคุณภาพของภาพถ่ายโครโมโซมที่ได้จากกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงซึ่งอาจขาดความสมบูรณ์เนื่องจากมีสิ่งรบกวน (Noise)และมีการซ้อนทับหรือหักงอของโครโมโซม ทำให้การวิเคราะห์โครโมโซมทำได้ยาก การนำเทคนิคทางด้าน Digital image processing มาใช้ในงานด้านนี้ จะทำให้ลดระยะเวลาและได้ผลลัพธ์ที่มีความละเอียดถูกต้องมากยิ่งขึ้น สำหรับงานวิจัยนี้ เป็นส่วนหนึ่งของระบบจำแนกชนิดโครโมโซมอัตโนมัติ โดยเป็นขั้นตอนการเตรียมข้อมูล(preprocessing) เพื่อใช้ในการจำแนกชนิดของโครโมโซมต่อไป

2. การหาลักษณะเฉพาะของภาพโครโมโซม

การหาลักษณะเฉพาะของภาพโครโมโซม ซึ่งได้แก่ ความยาว, ระยะของจุดเซนโตรเมียร์ และรูปแบบการกระจายของแถบความเข้มบนชิ้นโครโมโซม มีขั้นตอนดังนี้



2.1 การแยกส่วนของภาพโครโมโซมออกจากพื้นหลัง

เทคนิคการแยกเนื้อวัตถุ(Foreground) ออกจากพื้นหลัง (Background) โดยใช้การกำหนดค่า Threshold ได้รับการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง[2-3] สำหรับการทำ Segmentation ของภาพโครโมโซม S.W. Katz และ A.D. Brink[3] ได้แสดงวิธีการหาค่า Threshold ที่เหมาะสมสำหรับการแยกภาพโครโมโซมออกจากพื้นหลังซึ่งมีสิ่งรบกวน(Noise) ปัญหาที่พบในการเลือกค่า Threshold ที่เหมาะสมคือ ถ้าหากเลือกค่า ต่ำเกินไปบางส่วนของชิ้นโครโมโซมอาจถูกตัดออกไปทำให้ชิ้นของโครโมโซมที่ได้ไม่สมบูรณ์ แต่ถ้าหากเลือกค่าที่สูงเกินไป ก็อาจมีสิ่งรบกวนซึ่งปะปนอยู่ในภาพติดมากับชิ้นของโครโมโซมได้ วิธีการแก้ปัญหาคือ กำหนดค่า Threshold ขึ้น 2 ค่า T1 และ T2 โดยให้ T2 มีค่ามากกว่า T1 และ เมื่อ P คือความเข้มของจุดภาพใดๆ

ถ้า $P < T1$ กำหนดให้ P เป็นส่วน Foreground

ถ้า $P > T2$ กำหนดให้ P เป็นส่วน Background

ถ้า $T1 \leq P \leq T2$ แล้ว P จะเป็น Foreground ก็ต่อเมื่อ มีจุดภาพที่อยู่รอบๆ จุด P ในรัศมี 25 จุด มีค่าความเข้มน้อยกว่า T1

2.2 การหาแกนหลักของภาพโครโมโซม

ภาพของชิ้นโครโมโซมที่แยกได้อาจมีรูปร่างโค้งงอตามธรรมชาติ ซึ่งทำให้การวัดขนาดและหาการกระจายของแถบความเข้มบนโครโมโซมทำได้ยาก การกำหนดแกนหลัก ซึ่งจะเป็นแกนที่ลากผ่านจุดกึ่งกลางตามแนวยาวของชิ้นโครโมโซม โดยจะโค้งงอตามรูปร่างของตัวโครโมโซม จึงเป็นขั้นตอนซึ่งมีความสำคัญ โดยแกนหลักนี้จะใช้เป็นเครื่องมือในการวัดขนาดและหาลักษณะที่สำคัญต่างๆ ของภาพโครโมโซมได้อย่างถูกต้องแม่นยำยิ่งขึ้น นอกจากนี้ยังสามารถใช้แนวแกนนี้ในการปรับส่วนของโครโมโซมที่โค้งงอให้อยู่ในแนวตรง เพื่อความสะดวกในการวิเคราะห์โครโมโซมด้วยตาเปล่าอีกด้วย

การหาแกนหลักของภาพชิ้นโครโมโซมประกอบด้วยขั้นตอนที่สำคัญ 2 ขั้นตอนคือ

1. การทำ Medial Axis Tranform (MAT)
2. การคำนวณหาแกนหลักจาก MAT ด้วย Cubic Splines Interpolation

Medial Axis Transform (MAT)[4] เป็นวิธีการหาแกนของวัตถุซึ่งมีลักษณะเป็นแนวยาว ได้อย่างรวดเร็วโดยไม่ต้องใช้การวนลูปจำนวนมากเหมือนการทำ Thinning โดยทั่วไป ผลลัพธ์ที่ได้จากการทำ MAT จะได้เส้นแกนของภาพวัตถุ ซึ่งสามารถแสดงถึงทิศทางการวางตัวและการโค้งงอของวัตถุได้อย่างคร่าวๆ เนื่องจากเส้นแกนที่ได้อาจมีบางส่วนขาดเป็นช่วงๆไม่ต่อเนื่อง ลักษณะจุดที่เรียงต่อกันบนเส้นแกนไม่เรียบและบางแห่งมีเส้นแตกแขนง ด้วยเหตุนี้จึงไม่สามารถใช้เป็นแกนหลักของภาพโครโมโซมได้ ผลที่ได้จาก MAT เมื่อไปคำนวณเพื่อประมาณค่าของเส้นแกนหลัก ด้วยวิธี Cubic Splines Interpolation[5] จะสามารถสร้างแกนหลักของโครโมโซมซึ่งสามารถนำไปใช้หาลักษณะที่สำคัญอื่นๆ ได้อย่างถูกต้อง

2.2.1 การทำ Medial Axis Transform

การทำ MAT จะสามารถหาแกนของภาพวัตถุ โดยอาศัยการแทนค่าระยะห่างของแต่ละจุดภาพกับขอบภาพด้วยค่าความสว่างที่แตกต่างกัน โดยจุดที่อยู่นอกภาพวัตถุจะมีค่าความสว่างเป็นศูนย์ จุดซึ่งอยู่ชิดกับของภาพจะมีระยะทางสั้นที่สุดโดยแทนค่าด้วยค่าความสว่างน้อยๆ และเพิ่มค่าของความสว่างขึ้นเมื่อตำแหน่งของจุดอยู่ลึกเข้ามาภายในตัววัตถุ และจะมีความสว่างมากที่สุดเมื่อจุดภาพอยู่บนแกนกลางของภาพวัตถุ แกนของวัตถุจะสามารถหาได้จากค่า Local Maximal ของค่าความสว่างของจุดภาพ ดังนี้

กำหนดให้ P และ W เป็นค่าความสว่างของจุดภาพที่พิจารณาและจุดภาพซึ่งอยู่รอบๆ ตามลำดับ ดังรูปที่ 1. P จะเป็นจุดซึ่งอยู่บนแนวแกนของภาพ ก็ต่อเมื่อ $P \geq Wi$ เมื่อ $i = 0..7$

W6	W7	W0
W5	P	W1
W4	W3	W2

รูปที่ 1. จุดภาพซึ่งมีจุดข้างเคียงล้อมรอบ

การแทนค่าระยะห่างของจุดภาพกับขอบภาพด้วยค่าความสว่างที่แตกต่างกันนั้น สามารถทำได้อย่างรวดเร็วด้วยวิธีการสร้าง Euclidean Distance Map[4] โดยมีหลักการคือ จุดภาพอยู่ประชิดในแนวตั้งฉาก (90°) จะมีระยะห่างเท่ากับ 1 หน่วย ส่วนจุดภาพซึ่งอยู่ประชิดในแนวเฉียง (45°) จะมีระยะห่างเท่ากับ $\sqrt{2}$ หน่วย เพื่อให้การคำนวณรวดเร็วขึ้น เราสามารถประมาณค่า สัดส่วนของ $\sqrt{2} : 1$ ($\approx 1.414...$) ด้วยค่าจำนวนเต็ม 7 : 5 (≈ 1.40) จากนั้นกำหนดค่าความสว่างให้กับจุดภาพด้วย Algorithm ต่อไปนี้

1. กำหนดค่าความสว่างเป็น 0 ให้กับจุดภาพซึ่งอยู่นอกชิ้นวัตถุ และกำหนดค่า เลขจำนวนเต็มบวกที่มากที่สุดให้กับจุดภาพซึ่งอยู่ภายในชิ้นวัตถุ
2. คำนวณและกำหนดค่าจุดภาพภายในวัตถุให้มีความสว่างมากกว่าค่าความสว่างที่น้อยที่สุดของจุดภาพรอบๆ โดยทำจากด้านซ้ายไปด้านขวาและจากด้านบนลงด้านล่าง
3. ทำซ้ำขั้นตอนที่ 2. โดยเปลี่ยนทิศทางจาก ด้านขวาไปซ้าย และจากด้านล่างขึ้นบน

2.2.2 การหาแกนหลักด้วย Cubic Splines Interpolation

แนวแกนของภาพชิ้นโครโมโซมที่ได้จากขั้นตอน MAT จะนำมาใช้ในการประมาณค่าของแกนหลักโดยใช้วิธี Cubic Splines Interpolation โดยทำการปรับแนวการวางตัวของภาพชิ้นโครโมโซมให้

อยู่ในแนวราบขนานกับแกน Y ให้มากที่สุดเพื่อความสะดวกในการคำนวณ จากนั้นกำหนดจุดบนแนวเส้นแกนที่ได้จาก MAT โดยเลือกจุดซึ่งอยู่บนตำแหน่งของเส้นแกนเท่านั้น ไม่จำเป็นต้องใช้ทุกจุดแต่จุดภาพที่เลือกจะต้องกระจายอยู่ตลอดแนวความยาวของโครโมโซม จำนวนจุดจะขึ้นอยู่กับความยาวของชิ้นโครโมโซมนั้นๆ ตำแหน่งของจุดภาพ (coordinate) เหล่านี้จะใช้เป็นข้อมูลในการทำ Interpolation

รูปแบบความสัมพันธ์ของ Cubic Splines แสดงได้ดังนี้

$$f_i(x)=\frac{f''(x_{i-1})}{6(x_i-x_{i-1})}(x_i-x)^3+\frac{f''(x_i)}{6(x_i-x_{i-1})}(x-x_{i-1})^3 +\left[\frac{f(x_{i-1})}{x_i-x_{i-1}}-\frac{f''(x_{i-1})(x_i-x_{i-1})}{6}\right](x_i-x) +\left[\frac{f(x_i)}{x_i-x_{i-1}}-\frac{f''(x_i)(x_i-x_{i-1})}{6}\right](x_i-x_{i-1}) \quad (1)$$

$$(x_i-x_{i-1})f''(x_{i-1})+2(x_{i+1}-x_{i-1})f''(x_i)+(x_{i+1}-x_i)f''(x_{i+1}) =\frac{6}{(x_{i+1}-x_i)}[f(x_{i+1})-f(x_i)]+\frac{6}{(x_i-x_{i-1})}[f(x_{i-1})-f(x_i)] \quad (2)$$

โดยที่

x : ตำแหน่งของจุดในแนวแกน X

$f(x)$: ตำแหน่งของจุดในแนวแกน Y

i : ลำดับของข้อมูล

จากความสัมพันธ์ (1) และ (2) สามารถหาค่า $f(x)$ ของทุกจุดในแนวแกนของโครโมโซม โดยใช้ Algorithm ต่อไปนี้

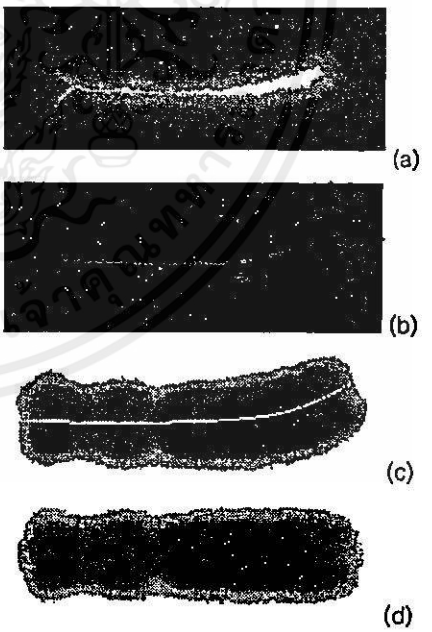
1. เตรียม Input Data Set จากตำแหน่งของจุดภาพ ที่ได้จาก MAT
2. ใช้ความสัมพันธ์ (2) สร้างระบบสมการ Tridiagonal System Equations[5]
3. แก้สมการในข้อ 2. เพื่อหา unknown คือค่า $f''(x_{i-1})$ $f''(x_i)$ และ $f''(x_{i+1})$
4. แทนค่า unknown ที่หาได้จากข้อ 3 ลงในความสัมพันธ์ (1) เพื่อทำการ Interpolate ค่า $f(x)$

2.3 การวัดขนาดและหารูปแบบการกระจายของแถบความเข้มบนโครโมโซม

ระดับความเข้ม(Gray Level) ของโครโมโซม ณ จุดใดๆ บนแกนหลัก (แกนที่ได้จากการประมาณด้วยวิธี Cubic Splines) สามารถคำนวณได้จากค่าความเข้มเฉลี่ยของจุดล่างๆ ในแนวเส้นตั้งฉากกับแกนหลัก จากนั้นสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มเฉลี่ยกับจุดใดๆ ในแนวแกนหลัก ซึ่งกราฟนี้จะแสดงรูปแบบการกระจายของแถบความเข้มของภาพชิ้นโครโมโซม ค่าความกว้างของชิ้นโครโมโซมจะวัดจากขอบภาพด้านหนึ่งไปยังขอบภาพอีกด้านหนึ่งตามแนวเส้นตั้งฉากกับแกนหลัก จากนั้นสามารถหาระยะของจุดเซนโตรเมียร์ ได้จากส่วนที่แคบที่สุดของชิ้นโครโมโซม ความยาวของภาพชิ้นโครโมโซมสามารถวัดได้โดยการนับจำนวนจุดภาพบนแกนหลักที่ลากผ่านลำตัวของโครโมโซม ซึ่งบิดโค้งงอตามรูปร่างของภาพ ลักษณะเฉพาะที่สำคัญทั้ง 3 ชนิดที่วัดได้ กล่าวคือ 1. การกระจายของแถบความเข้มบนชิ้นโครโมโซม 2. ระยะของจุดเซนโตรเมียร์ และ3. ความยาวของชิ้นโครโมโซม จะนำไปใช้ในการจำแนกชนิดของโครโมโซมต่อไป

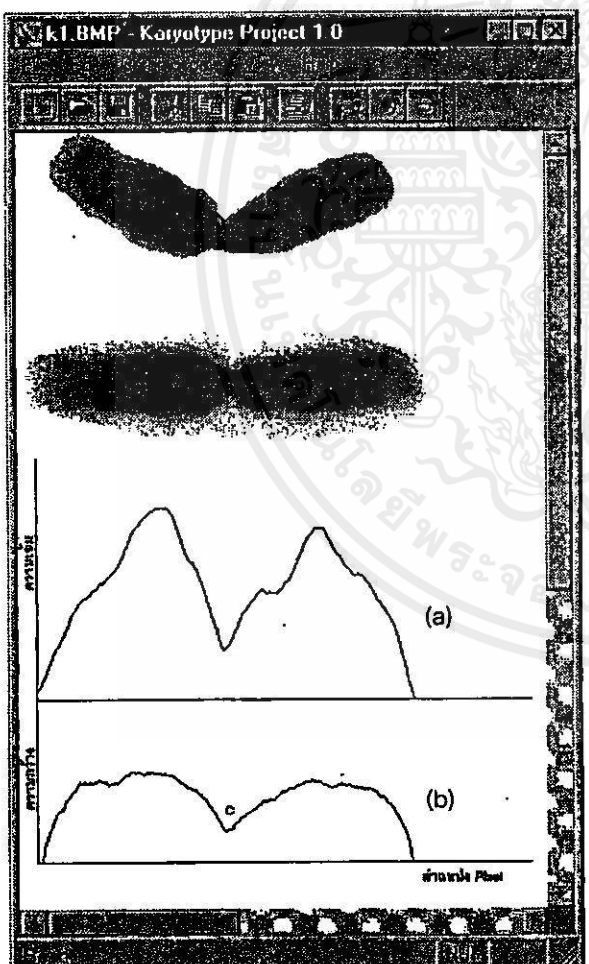
3. ผลการทดลอง

จากการทดลองโดยพัฒนาโปรแกรมด้วยภาษา C++ บนระบบปฏิบัติการ Windows NT 4.0 โดยใช้เครื่อง PC รุ่น Pentium Pro 200 MHz ภาพโครโมโซมที่ใช้ในการทดลองเป็นโครโมโซมในระยะ metaphase ที่ได้จากเซลล์เม็ดเลือดขาว(Lymphocytes) ของมนุษย์ โดยถ่ายภาพจากกล้องจุลทัศน์และจัดเก็บในรูปแบบของ Gray-Scale Bitmap มีความละเอียดของจุดภาพ 150 จุดต่อนิ้ว เมื่อผ่านขั้นตอนการแยกภาพชิ้นโครโมโซมออกจากพื้นหลัง ด้วยวิธีกำหนด Threshold แล้ว จะนำภาพของโครโมโซมแต่ละชิ้นไปหาค่าของแกนหลัก โดยผ่านขั้นตอนการทำ MAT และ Cubic Splines Interpolation ตามลำดับ



รูปที่ 2. ภาพชิ้นโครโมโซมจากการทดลอง (a) Euclidean Distance Map. (b) เส้นแกนจาก Medial Axis Transform (c) เส้นแกนหลักจาก Cubic Splines Interpolation (d) โครโมโซมเมื่อปรับให้อยู่ในแนวตรง

แนวแกนแบบคร่าวๆ ที่ได้จากการทำ MAT (รูปที่ 2b.) เมื่อผ่านขั้นตอนการคำนวณด้วย Cubic Splines Interpolation จะได้รูปแบบความสัมพันธ์ของเส้นโค้งซึ่งสามารถใช้เป็นแนวแกนหลักของโครโมโซมได้ (รูปที่ 2c.) การปรับโครงรูปของโครโมโซมที่โค้งงอให้อยู่ในแนวตรงสามารถทำได้โดยการนำจุดภาพซึ่งตัดตามแนวขวางตั้งฉากกับแกนหลักของโครโมโซม มาเรียงต่อกันในแนวตรง (รูปที่ 2d.) เมื่อได้แกนหลักของชิ้นโครโมโซมแล้ว จะสามารถหาการกระจายของแถบความเข้ม โดยทำการเฉลี่ยค่าความเข้มของจุดภาพซึ่งอยู่ตั้งฉากกับแนวแกนหลัก และสร้างกราฟ ความสัมพันธ์ระหว่าง ระยะของจุดภาพบนแนวแกนหลัก (แกน X) กับความเข้มเฉลี่ยของจุดภาพ(แกน Y) ซึ่งกราฟนี้จะใช้แทนรูปแบบการกระจายของแถบความเข้มบนชิ้นโครโมโซมแต่ละชิ้นได้ (รูป 3a.) นอกจากนี้ยังสามารถวัดระยะของจุดเซนโตรเมียร์และวัดความยาวของชิ้นโครโมโซม(รูป 3b.) โดยอาศัยแกนหลักของภาพชิ้นโครโมโซมเช่นกัน



รูปที่ 3. ลักษณะเฉพาะของภาพชิ้นโครโมโซมที่ได้จากการทดลอง (a) การกระจายของแถบความเข้ม (b) ความยาวและระยะจุดเซนโตรเมียร์

4. สรุป

แกนหลักของภาพชิ้นโครโมโซมซึ่งมีรูปร่างโค้งงอตามธรรมชาติ สามารถหาได้อย่างรวดเร็ว โดยการทำ Medial Axis Transform และ Cubic Splines Interpolation แกนหลักนี้จะนำไปใช้หาค่าลักษณะเฉพาะต่างๆของภาพชิ้นโครโมโซม ได้แก่ การกระจายของแถบความเข้ม, ระยะของจุดเซนโตรเมียร์ และ ความยาวของชิ้นโครโมโซม ข้อมูลเหล่านี้จะนำไปใช้ในการจำแนกประเภทของโครโมโซมต่อไป นอกจากนี้ยังสามารถใช้แนวแกนหลักของชิ้นโครโมโซมในการปรับภาพโครงรูปของโครโมโซมที่โค้งงอให้อยู่ในแนวตรงได้ ซึ่งจะอำนวยความสะดวกในการวิเคราะห์เปรียบเทียบลักษณะของโครโมโซมด้วยตาเปล่าโดยผู้เชี่ยวชาญได้เป็นอย่างดี อย่างไรก็ตามการใช้เทคนิคดังกล่าวยังมีข้อจำกัดกล่าวคือ ภาพของชิ้นโครโมโซมที่มีการบิดโค้งงอนั้นเมื่อหมุนภาพให้อยู่ในแนวราบแล้วจะต้องไม่มีการโค้งย้อนกลับ เนื่องจากขั้นตอนการทำ Cubic Splines Interpolation จะไม่สามารถหารูปแบบของเส้นซึ่งโค้งย้อนกลับได้ วิธีการแก้ไขคืออาจแบ่งภาพของชิ้นโครโมโซมซึ่งมีการโค้งย้อนกลับออกเป็น 2 ส่วนจากนั้นทำการ Interpolate ข้อมูลทั้งสองส่วนแยกกัน นอกจากนี้การปรับภาพของชิ้นโครโมโซมที่โค้งงอให้อยู่ในแนวตรงนั้นจำเป็นต้องสูญเสียข้อมูลของจุดภาพบางส่วนไป ผลลัพธ์ของภาพที่ได้บางส่วนจึงอาจบิดเบือนไปจากภาพเดิม ถึงอย่างไรก็ตามผลที่ได้ก็ยังคงรายละเอียดที่สำคัญของชิ้นโครโมโซมไว้ได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ผศ.ดร. บุษบา ฤกษ์อำนวยโชค และ ดร. วสันต์ จันทราทิตย์ หน่วยมนุษย์พันธุศาสตร์ ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ รพ.รามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล ซึ่งได้ให้คำแนะนำและอำนวยความสะดวกในการเยี่ยมชมห้องปฏิบัติการ และได้มอบภาพถ่ายของโครโมโซมจากกล้องจุลทัศน์เพื่อใช้ในงานวิจัยนี้อีกด้วย

เอกสารอ้างอิง

[1] Alan E.H. Emery and Robert F. Mueller, "Elements of Medical Genetics", Churchill Livingstone Medical Division of Longman Group UK Ltd., 1992, pp. 101-155.

[2] J.R. Parker, "Gray Level Thresholding in Badly Illuminated Images", IEEE Transactions on pattern analysis and machine intelligence, Vol 13, No. 8, 1991, pp. 813-819.

[3] S.W. Katz and A.D. Brink, "Segmentation of Chromosome Images", International Conference of IEEE Engineering in Medicine and Biology, 1993, pp. 85-88.

[4] John C. Russ, "The Image Processing Handbook", CRC Press, 1994, pp. 463-475.

[5] Steven C. Chapra and Raymond P. Canale, "Numerical Methods for Engineers", McGRAW-HILL Book Company, 1990, pp. 387-399.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของลิขสิทธิ์ที่ปรากฏในเอกสารนี้ทุกครั้ง

ประวัติผู้เขียน

เกษมสันต์ คูภานุมาต เกิดวันที่ 19 มิถุนายน พ.ศ.2513 จังหวัดนครสวรรค์ สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต(ชีวเคมี) จากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2536 ปัจจุบันทำงานตำแหน่งเจ้าหน้าที่ระบบคอมพิวเตอร์ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้